



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

JHONATTAS DE CARVALHO CARREGOSA

**AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO MOLECULAR NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DE PETRÓLEO NOS ESTÁGIOS INICIAIS DE
CONTATO COM AMBIENTES AQUÁTICOS**

**EVALUATION OF MOLECULAR CHANGES IN THE CHEMICAL
COMPOSITION OF CRUDE OIL IN EARLY STAGES OF CONTACT
WITH AQUATICS ENVIRONMENTS**

JHONATTAS DE CARVALHO CARREGOSA





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

AVALIAÇÃO DA ALTERAÇÃO MOLECULAR NA COMPOSIÇÃO
QUÍMICA DE PETRÓLEO NOS ESTÁGIOS INICIAIS DE
CONTATO COM AMBIENTES AQUÁTICOS

Dissertação de mestrado apresentado
ao Programa de Pós-Graduação em
Química, da Universidade Federal de
Sergipe, para a obtenção do título de
Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Alberto Wisniewski Jr.

Co-orientador: Prof. Dr. Jandyson Machado Santos

EVALUATION OF MOLECULAR CHANGES IN THE CHEMICAL
COMPOSITION OF CRUDE OIL IN EARLY STAGES OF CONTACT
WITH AQUATICS ENVIRONMENTS

*Master's dissertation presented to the
Graduate Program in Chemistry of the
Federal University of Sergipe for
obtaining Master's degree in
Chemistry.*



**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

C314a Carregosa, Jhonattas de Carvalho.
Avaliação da alteração molecular na composição química de petróleo nos estágios iniciais de contato com ambientes aquáticos / Jhonattas de Carvalho Carregosa ; orientador Alberto Wisniewski Junior - São Cristóvão, 2019.
94 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Química. 2. Petróleo. 3. Óleos e gorduras. 4. Impacto ambiental. 5. Gomas e resinas. 6. Processos químicos. I. Wisniewski Junior, Alberto orient. II. Título.

CDU 54:665.61

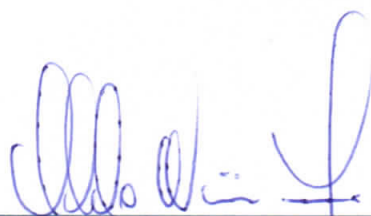


SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
Programa de Pós-Graduação em Química
PPGQ

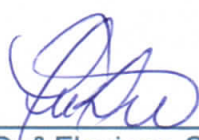


FOLHA DE APROVAÇÃO

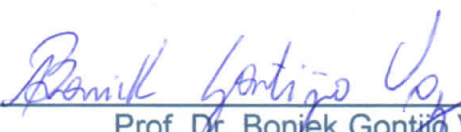
Membros da Comissão Julgadora da Dissertação de Mestrado de Jhonattas de Carvalho Carregosa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 01/02/2019.



Prof. Dr. Alberto Wisniewski Junior
Departamento de Química - UFS



Prof.ª Dr.ª Flaviana Cardoso Damasceno
Departamento de Química – UFS



Prof. Dr. Boniek Gontijo Vaz
Universidade Federal de Goiás

RESUMO

Os acidentes envolvendo vazamento de petróleo, como o ocorrido recentemente na bacia de Guanabara/RJ – Brasil, são fontes de constantes pesquisas acerca das potenciais toxicidades para o meio ambiente. O óleo no ambiente passa por diversas mudanças composicionais e entendê-las auxiliam na compreensão dos riscos ao ambiente impactado. Deste modo, técnicas clássicas, como fracionamento SARA, análise elementar e cromatografia gasosa (GC), juntamente com a técnica avançada de ESI(\pm)-FTMS, permitiram um estudo abrangente na avaliação da alteração da composição molecular de óleos durante as primeiras 72 horas de contato do óleo com o ambiente aquático salino e fluvial. Os resultados mostraram que já nas primeiras horas de exposição ao ambiente fluvial, ocorreu a diminuição da fração de saturados para os óleos brutos testados, sendo os valores mais expressivos 16% para o óleo médio e 4% para o óleo pesado. A fração de aromáticos também teve um impacto de 11% e 5%, respectivamente, para o mesmo ambiente. As relações Ph/*n*-C₁₈ e Pr/*n*-C₁₇ identificaram uma leve contribuição da biodegradação microbiológica para os óleos em contato com ambiente marinho, e, uma mais sistêmica para os que tiveram contato com o ambiente fluvial. Foi observado um aumento da fração resinóica dos óleos para ambos os ambientes em ~10%, além da alteração da composição elementar sofrida pelos óleos em contato com os respectivos ambientes. De modo geral, a intensidade relativa da classe O₂ quase dobrou, independente do óleo ou ambiente ao qual o mesmo foi inserido. O óleo de menor °API apresentou a classe N₁ mais destacada para a análise por ESI(-). Através da avaliação da fração resinóica por ESI(+), o estudo mostrou que compostos da classe N₁, contendo número de carbonos maiores que C₅₀ e DBE maior que 15 apresentaram maior susceptibilidade à processos foto-oxidativos.

Palavras-chave: petróleo, óleo bruto, impacto ambiental, SARA, resinas, FTMS, Orbitrap.

ABSTRACT

Accidents involving oil leakage, such as that recently occurred in the Guanabara basin/RJ - Brazil, are sources of constant research on the potential toxicities of the environment. The oil when released in the environment goes through several compositional changes and understanding them helps in understanding the assessment of the risks to the impacted environment. Thus, classical techniques, such as SARA fractionation, elemental analysis, and gas chromatography (GC), along with the advanced technique ESI(\pm)-FTMS technique, allowed a comprehensive study in the evaluation of molecular changes in the oils composition during the first 72 hours of contact with saline and fluvial aquatic environment. The results showed that in the very first hours of exposure to the fluvial environment, the saturated fraction suffered a decreasing for both crudes tested, the most significant was observed to the medium oil, which have a loss of 16%, as for the heavy one, only 4%. The aromatics fraction also suffered an impact of 11% and 5%, respectively, for the same environment. The Ph/*n*-C₁₈ and Pr/*n*-C₁₇ ratios have identified a slight contribution of microbiological biodegradation to oils in contact with the marine environment and a more systemic one for those who had contact with the fluvial environment. It was observed an increase of the resinous fraction of the oils for both environments in ~10%, besides the alteration of the elemental composition suffered by the oils in contact with the respective aquatic environments. In general, the relative intensity of class O₂ almost doubled, regardless of the oil or environment to which it was inserted. The oil of lower ρ API showed the most outstanding class was the N₁ for ESI(-) analysis. Through the evaluation of the resin fraction by ESI(+), this study showed that the N₁ class, which contains carbon numbers larger than C₅₀ and DBE greater than 15 greater presented higher susceptibilities to photooxidative processes.

Keywords: petroleum, crude oil, environmental impact, SARA, resins, FTMS, Orbitrap.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Petróleo ou óleo bruto	3
1.2	Composição Química	4
1.2.1	<i>Hidrocarbonetos.....</i>	4
1.2.2	<i>Não hidrocarbonetos.....</i>	6
1.3	Biomarcadores	9
1.3.1	<i>Razão isoprenóides e n-alcanos.</i>	10
1.4	Métodos Cromatográficos de Análise	10
1.4.1	<i>Fracionamento SARA</i>	11
1.5	Espectrometria de massas de ultra-alta resolução	13
1.5.1	<i>Fonte de Ionização por Electrospray.....</i>	14
1.5.2	<i>Orbitrap: Analisador de massas/carga</i>	16
1.6	Petroleômica	17
1.6.1	<i>Histograma de Classes</i>	18
1.6.2	<i>DBE vs Número de Carbono.....</i>	19
1.6.3	<i>Diagrama de Van Krevelen</i>	20
2	OBJETIVOS.....	22
2.1	Objetivo geral	22
2.2	Objetivos específicos	22
3	MATERIAIS E MÉTODOS	23
3.1	Amostras	23
3.1.1	<i>Óleo Bruto.....</i>	23
3.1.2	<i>Águas.....</i>	23
3.2	Simulação de vazamento de óleo	24
3.3	Caracterização Química.....	24
3.3.1	<i>Análise por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização por Chama</i>	25
3.3.2	<i>Análise elementar das mudanças ocorridas no óleo bruto</i>	26

3.3.3	<i>Análise das frações resinóicas por Espectrometria de Massas de Ultra-alta Resolução (UHRMS).....</i>	<i>26</i>
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	28
4.1	Efeito da ação do ambiente aquático na distribuição SARA de óleos brutos.....	28
4.1.1	<i>Avaliação da classificação SARA do óleo UOSEAL-01</i>	<i>28</i>
4.1.2	<i>Avaliação da classificação SARA do óleo AM-0453</i>	<i>33</i>
4.2	Análise Elementar	37
4.3	Perfis cromatográficos das frações de saturados.....	40
4.3.1	<i>Evolução dos saturados por GC-FID do óleo UOSEAL-01</i>	<i>40</i>
4.3.1	<i>Evolução dos saturados por GC-FID do óleo AM-0453</i>	<i>44</i>
4.3.2	<i>Comparação entre os óleos para a evolução dos saturados</i>	<i>46</i>
4.4	Análise das frações resinóicas dos óleos por ESI(±)-FTMS	48
4.4.1	<i>Evolução das resinas do óleo UOSEAL-01 no ambiente marinho pelo ESI-(+)-FTMS</i>	<i>49</i>
4.4.2	<i>Evolução das resinas do óleo UOSEAL-01 no ambiente fluvial pelo ESI-(+)-FTMS</i>	<i>52</i>
4.4.3.	<i>Análise das resinas do óleo UOSEAL-01 por ESI-(-)-FTMS.....</i>	<i>59</i>
4.5	Análise das frações resinóicas do óleo AM-0543 por ESI(±)-FTMS	62
4.5.1	<i>Evolução das resinas do óleo AM-0453 por ESI(+)-FTMS</i>	<i>62</i>
4.5.2	<i>Evolução das resinas do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS</i>	<i>68</i>
5	CONCLUSÕES	71
6	REFERÊNCIAS	73

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Classes de hidrocarbonetos encontrados no petróleo	6
Figura 2 – Classes de compostos nitrogenados encontrados no petróleo..	7
Figura 3 – Classes de compostos contendo enxofre.....	8
Figura 4 – Classes de compostos oxigenados encontrados no petróleo.....	9
Figura 5 - Procedimento do Fracionamento SARA.....	11
Figura 6 – Biomarcadores presentes na fração de saturados.	12
Figura 7 – Biomarcadores presentes na fração de aromáticos..	12
Figura 8 – Compostos presentes na fração de resinas.	13
Figura 9 - Esquema básico de um MS..	14
Figura 10 - Esquema de uma fonte de ionização por " <i>Electrospray</i> "	15
Figura 11 - Representação do “squeeze” (representado em vermelho) que ocorre do C-trap até o Orbitrap..	17
Figura 12 – Exemplo de espectro de massas obtido por Orbitrap-MS..	18
Figura 13 - Exemplo de histograma de classes em petroleômica.	19
Figura 14 - Exemplos de Diagrama de <i>DBE</i> vs Número de Carbono.....	20
Figura 15 - Exemplo de aplicação do Diagrama de Van Krevelen.	21
Figura 16 - Evolução da fração de saturados do óleo UOSEAL-01 submetidos aos dois ambientes estudados.....	30
Figura 17 - Evolução da fração de aromáticos do óleo UOSEAL-01 exposto ao ambiente marinho.	31
Figura 18 - Evolução da fração de aromáticos do óleo UOSEAL-01 exposto ao ambiente fluvial.	31
Figura 19 - Evolução da fração de resinas no óleo UOSEAL-01 submetido ao ambiente marinho.	32
Figura 20 - Evolução da fração de resinas no óleo UOSEAL-01 submetido ao ambiente fluvial.	33
Figura 21 - Evolução da fração de saturados no óleo AM-0453 submetido ao ambiente marinho.	34

Figura 22 - Evolução da fração de saturados no óleo AM-0453 submetido ao ambiente fluvial.	35
Figura 23 - Evolução da fração de aromáticos do óleo AM-0453 exposto ao ambiente marinho.	36
Figura 24 - Evolução da fração de aromáticos do óleo AM-0453 exposto ao ambiente fluvial.	36
Figura 25 - Evolução da fração de resinas no óleo AM-0453 submetido ao ambiente marinho.	37
Figura 26 - Evolução da fração de resinas no óleo AM-0453 submetido ao ambiente fluvial.	37
Figura 27 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente fluvial.	41
Figura 28 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente marinho.....	42
Figura 29 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do mar.....	43
Figura 30 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do rio.	43
Figura 31 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente marinho.....	44
Figura 32 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente fluvial.	45
Figura 33 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do mar.....	45
Figura 34 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do rio.	46
Figura 35 - Evolução da biodegradação dos <i>n</i> -alcanos do óleo AM-0453.	47
Figura 36 - Evolução da biodegradação dos <i>n</i> -alcanos do óleo UOSEAL-01.	47
Figura 37 - Comparativo entre a biodegradação dos óleos estudados.	48
Figura 38 - Comparação entre o PetroMS e Composer no modo positivo.	49
Figura 39 - Evolução da fração resinóica por FTMS – Ambiente Marinho.	50
Figura 40 - Histograma de classes para o óleo em contato com o ambiente marinho no modo positivo.	51

Figura 41 - Gráfico de Van Krevelen para todas as classes de oxigenados - Ambiente marinho.	52
Figura 42 - Evolução da fração resinóica por FTMS – Ambiente Fluvial.	53
Figura 43 - Diagramas de DBE vs Número de Carbono da classe N do óleo UOSEAL-01 – Ambiente fluvial.	54
Figura 44 - Histograma de classes para o óleo em contato com o ambiente fluvial no modo positivo.	55
Figura 45 - DBE vs Número de Carbono para a Classe O ₁ para o ambiente fluvial.	56
Figura 46 - Gráfico de Van Krevelen para todas as classes de oxigenados - Ambiente fluvial.	58
Figura 47 - Histograma de classes para o óleo UOSEAL-01 em contato com o ambiente marinho no modo negativo.	59
Figura 48 - Histograma de classes para o óleo UOSEAL-01 em contato com o ambiente fluvial no modo negativo.	60
Figura 49 - Evolução da classe N ₁ por ESI(-)-FTMS para o ambiente fluvial. .	60
Figura 50 - Evolução da classe N ₁ por ESI(-)-FTMS para o ambiente marinho.	61
Figura 51 - Evolução da classe O ₂ por ESI(-)-FTMS para o ambiente marinho.	62
Figura 52 - Evolução da classe O ₂ por ESI(-)-FTMS para o ambiente fluvial. .	62
Figura 53 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente marinho modo positivo.	63
Figura 54 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente fluvial no modo positivo.	63
Figura 55 - Evolução da classe N ₁ do óleo AM-0453 no ambiente fluvial por ESI(+)-FTMS.	66
Figura 56 - Evolução da classe N ₁ do óleo AM-0453 no ambiente marinho por ESI(+)-FTMS.	67
Figura 57 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente marinho no modo negativo.	68
Figura 58 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente fluvial no modo negativo.	69

Figura 59 - Evolução da classe O ₂ do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS para os ambientes fluvial e marinho.....	69
Figura 60 - Evolução da classe N ₁ do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS para o ambiente fluvial.	70
Figura 61 - Evolução da classe N ₁ do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS para o ambiente marinho.	70

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Caracterização microbiológica das águas do rio e mar.	23
Tabela 2 - Condições estabelecidas para a simulação de vazamento.	24
Tabela 3 - Parâmetros de operação do sistema GC×GC-FID.	25
Tabela 4 - Distribuição SARA do óleo UOSEAL-01 em contato com água do mar.....	28
Tabela 5 - Distribuição SARA do óleo UOSEAL-01 em contato com água do rio.	28
Tabela 6 - Distribuição SARA do óleo AM-0453 em contato com água do mar.	33
Tabela 7 - Distribuição SARA do óleo AM-0453 em contato com água do rio.	34
Tabela 8 - Análise elementar do óleo bruto UOSEAL-01 em contato com o ambiente fluvial.	38
Tabela 9 - Análise elementar do óleo bruto UOSEAL-01 em contato com o ambiente marinho.	38
Tabela 10 - Análise elementar do óleo bruto AM-0453 em contato com o ambiente marinho.	39
Tabela 11 - Análise elementar do óleo bruto AM-0453 em contato com o ambiente fluvial.	40
Tabela 12 - DBE média das frações resinóicas em ambiente fluvial.	54

“A ciência atua na fronteira entre o conhecimento e a ignorância sem medo de admitir que não sabemos. Não há nenhuma vergonha nisso. A única vergonha é fingir que temos todas as respostas.”

(Neil deGrasse Tyson)

Ao meu eterno fã nº1, o homem que me ensinou tudo o que sei e me mostrou que, antes de tudo, precisamos ser fortes. Meu querido e amado pai, Jussileno Carregosa Santos (In memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família por todo o amor e dedicação ao longo da vida, em especial a minha avó, Maria do Carmo Santos, as minhas irmãs, Ingrid Suellen e Ana Vitória, e a minha tia, Juciléa Carregosa, por me apoiarem durante toda essa caminhada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Alberto Wisniewski Junior, por confiar a mim o desenvolvimento deste trabalho, e por toda a paciência que teve para me ensinar, do zero, tudo o que sei hoje. Sua orientação foi excelente, tanto profissional quanto pessoal. Sou extremamente grato por tê-lo como um dos alicerces da minha formação profissional.

Aos membros que compuseram a banca do exame de qualificação e da defesa desse trabalho, o meu muito obrigado pela disponibilidade e contribuição. E aos do PPGQ da UFS, por toda transmissão de conhecimento. Em especial, ao meu coorientador, Dr. Jandyson Machado Santos, e a Dr.^a Flaviana Cardoso Damasceno.

A todos os alunos que fazem parte do Grupo de Pesquisa em Petróleo e Energia da Biomassa (PEB), pelos momentos de descontração e amizade, em especial a Dr. Paloma Santa Prata, pelos teus inúmeros conselhos e correções.

Aos amigos do curso de mestrado, em especial, a Julian, Alan, Barbara e Gabriela, sofremos e rimos juntos ao longo desse percurso. E aos amigos do B302 por todo apoio e entendimento, em especial a Guilherme Rodolfo Souza de Araújo, sua contribuição nessa reta final foi de extrema importância.

Ao PPGQ e CLQM pela infraestrutura disponibilizada, e ao CNPq pelo auxílio financeiro ao projeto e concessão da bolsa de estudo.

Enfim, a DEUS os meus sinceros agradecimentos pelo dom da vida e capacitação.

LISTA DE ABREVIATURAS

AM	Amostra
°API	Unidade de classificação de petróleo através da densidade elaborado pelo Instituto Americano do Petróleo (<i>American Petroleum Institute's grade</i>)
APCI	Ionização Química à Pressão Atmosférica (<i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>)
APPI	Fotoionização à Pressão Atmosférica (<i>Atmospheric Pressure Photoionization</i>)
BTEX	Benzeno, Tolueno, Etil-benzeno, Xilenos
DBE	Equivalência de Dupla Ligação (<i>Double Bond Equivalence</i>)
DCM	Diclorometano
ESI	Eletronebulização (<i>Eletrospray Ionization</i>)
FT	Transformada de <i>Fourier</i> (<i>Fourier Transform</i>)
FT-ICR	Ressonância Ciclotrônica do Íon com Transformada de <i>Fourier</i> (<i>Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance</i>)
FTMS	Espectrometria de Massas com Transformada de <i>Fourier</i> (<i>Fourier Transform - Mass Spectrometry</i>)
FWHM	Resolução calculada pelo parâmetro de largura à meia altura (<i>Full Width at Half-Maximum</i>)
GC/MS	Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massas (<i>Gas Chromatography/Mass Spectrometry</i>)
GC×GC	Cromatografia Gasosa Bidimensional Abrangente (<i>Comprehensive two-dimensional Gas Chromatography</i>)
GC-FID	Cromatografia a Gás com Detector de Ionização por Chama (<i>Gas Chromatography with Flame Ionization Dectetor</i>)
m/z	Razão massa sobre carga (<i>mass-to-charge ratio</i>)
MAHs	Hidrocarbonetos Monocíclicos Aromáticos (<i>Monocyclic Aromatics Hydrocarbons</i>)
MeOH	Metanol
OCC	Cromatografia em Coluna Aberta (<i>Open Column Chromatography</i>)

PAHs	Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (<i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbons</i>)
Ph	Fitano
PIONA	Parafinas, Isoparafinas, Olefinas, Naftênicos, Aromáticos
Pr	Pristano
SARA	Saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos
SIM	Monitoramento de íon seletivo (<i>Single Ion Monitoring</i>)
TPH	Hidrocarbonetos Totais de Petróleo (<i>Total Petroleum Hydrocarbons</i>)
UHRMS	Espectrometria de Massas de Ultra-alta Resolução (<i>Ultra High Resolution Mass Spectrometry</i>)
UOSEAL	Unidade Operacional de Exploração e Produção Sergipe-Alagoas
VOCs	Compostos Orgânicos Voláteis (<i>Volatile Organic Compounds</i>)

1 INTRODUÇÃO

O petróleo ou óleo bruto, além de uma importante matriz energética, é matéria-prima de diversos produtos que abastecem as mais variadas indústrias, como a farmacêutica, a química e a de construção civil. Como qualquer outra indústria, a petroquímica é constituída por diversos setores, como o de exploração, refino e transporte. E com frequência, em alguma dessas etapas, acidentes envolvendo o petróleo acabam acontecendo [1].

A ocorrência de acidentes relacionados à cadeia produtiva do petróleo são mais comuns do que se imagina, por exemplo, em janeiro de 2018 ocorreu um acidente na China envolvendo um navio-petroleiro iraniano que transportava 136 mil toneladas de petróleo leve [2]. No mesmo ano, ocorreu, na Baía de Guanabara - RJ, um derramamento de petróleo, proveniente de uma tentativa de furto, de cerca de 60 mil litros, afetando de maneira agressiva as atividades econômicas da região, devido à contaminação da fauna local [3].

Outros acidentes mundialmente conhecidos por suas dimensões são da *Deepwater Horizon* no Golfo do México em abril de 2010 e o da Chevron na bacia de Campos no Brasil em novembro de 2011, sendo o primeiro conhecido como pior acidente envolvendo petróleo no mundo e o segundo como um dos piores já ocorridos no Brasil [4].

Após um vazamento de petróleo vários fenômenos ocorrem logo em seguida. Evaporação, dissolução, dispersão, emulsificação, foto-oxidação e biodegradação são os fenômenos observados após a descarga do óleo bruto no meio ambiente, e estes mudam constantemente a composição do petróleo derramado [5]. Devido à elevada complexidade do petróleo, os milhares de compostos podem ser divididos em quatro classes principais: saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos. Estuda-los é extremamente importante no tocante ao entendimento dos potenciais efeitos tóxicos ao meio ambiente [5-7].

A fim de estudar estes fatores a cromatografia a gás com detecção por ionização em chama (GC-FID) e a cromatografia a gás/espectrometria de massas (GC/MS) foram bastante empregadas para elucidar mudanças ocorridas nas frações de saturados e aromáticos de óleos brutos [8-10]. Entretanto, esta técnica se limita a compostos volatilizáveis e termicamente

estáveis à temperatura de trabalho do cromatógrafo, deste modo a análise de compostos mais pesados e polares tornam-se limitadas [12].

Assim, técnicas mais avançadas são utilizadas para sobrepor estas limitações, como a espectrometria de massas de ultra-alta resolução (FTMS), mencionada com frequência na literatura como Espectrometria de Massas com Transformada de *Fourier* (FTMS), performada tanto em Espectrômetro de massas utilizando a Ressonância Ciclotrônica de Íons (FT-ICR MS) quanto do tipo Orbitrap (FT-Orbitrap MS) [1,12]. Devido a possibilidade de utilização de diversas fontes de ionização, bem como a altíssima capacidade de resolução de íons, a FTMS torna-se uma excelente ferramenta na caracterização abrangente de óleo bruto, pois com ela é possível estudar as frações limitadas pelas técnicas convencionais [12,13].

Embora alguns estudos mostrem as mudanças sofridas pelo óleo após o derrame em ambientes aquáticos, como nos trabalhos de Lemkau *et al.* (2014) e Huba *et al.* (2016), esses estudos foram centrados em tempos muito longos, ignorando as mudanças iniciais do óleo logo após seu derrame no ambiente[1], [16]. Por isso, este trabalho objetiva um estudo abrangente sobre as mudanças ocorridas no óleo nos tempos iniciais de contato com ambientes aquáticos, mediante uma simulação de vazamento em amostras reais de água doce e salgada, fazendo uso de técnicas clássicas e avançadas de caracterização do óleo bruto ao longo desse processo.

1.1 Petróleo ou óleo bruto

Por definição, os fluídos ricos em hidrocarbonetos (gases e líquidos) produzidos a partir do querogênio durante a catagênese e metagênese são coletivamente denominados de petróleo [17]. Este termo deriva do latim, “*petra*” e “*oleum*”, que significa óleo de pedra. O petróleo, também chamado de óleo bruto, varia drasticamente em termos de coloração, odor e densidade conforme sua origem, contudo, de forma geral, é definido como sendo uma substância oleosa, inflamável, com cheiro característico e coloração entre negro e castanho [18].

Há duas correntes que tentam explicar a origem do petróleo: a abiogênica (inorgânica) e a biogênica (orgânica). A corrente inorgânica afirma, de modo geral, que o petróleo é formado a partir de uma reserva de metano na região do manto, onde este é continuamente injetado na crosta de áreas fracas, como os limites das placas da litosfera, antigas zonas de sutura e locais de impacto de meteoritos. Assim, sob condições de lenta migração e resfriamento ascendente, parte desse metano é supostamente polimerizado e reage em reações análogas a de *Fischer-Tropsch*, resultando em cadeias de hidrocarbonetos mais longas e petróleo bruto de maior massa molecular.[19]. Há duas teorias que suportam a formação abiogênica do petróleo, a teoria Russo-Ucraniana e a Teoria de Thomas Gold. A primeira refere-se aos hidrocarbonetos como um material primordial que entrou em erupção na superfície da terra, e, portanto não é um combustível fóssil. A segunda está relacionada com a origem do metano natural na terra [17, 18].

Já a corrente orgânica, afirma que o petróleo é formado a partir de um histórico e longo caminho, onde há a produção, acúmulo e acomodação da matéria orgânica. A partir dessa premissa, ocorrem três processos, são estes: diagênese, catagênese e metagênese [21]. O primeiro processo começa nos sedimentos recém depositados, onde a atividade microbiológica é o principal agente de transformação. Este processo finaliza-se com a formação do querogênio como produto final. O segundo processo resulta de um aumento de temperatura durante a sedimentação do material formado. Com o aumento da temperatura é iniciada a termo degradação do querogênio, responsável pela geração da maioria dos hidrocarbonetos. No terceiro processo, é alcançada

uma profundidade maior, deste modo, as condições de pressão e temperatura se elevam ainda mais. Assim, dá-se o começo do ordenamento cristalino, onde o carvão produzido começa a ser transformado em antracito. Este último processo antecede o metamorfismo, neste processo o óleo migra através da camada de rochas adjacentes até ficarem presos no subsolo em rochas porosas chamadas de reservatórios, formando um campo de petróleo, de onde líquido pode ser extraído por perfuração e bombeamento [18, 22, 23].

Por tanto, na superfície da terra o petróleo encontra-se em um sistema que envolve: rocha geradora, caminho de migração primário e secundário, e reservatório. Consequentemente a composição química do petróleo depende do tipo da matéria orgânica que deu aporte a rocha geradora, da evolução da rocha de origem e do caminho da migração. Portanto, é sabido que óleos possuem características diferentes a depender da sua procedência, variando aspectos, como cor, viscosidade, odor, densidade, acidez e outros [14, 20].

1.2 Composição Química

A composição química do petróleo pode variar não apenas em relação ao local ou região, mas também de acordo com a profundidade em um mesmo poço. Diante da complexidade de sua composição não existem dois petróleos idênticos [18]. Contudo, no tocante à composição elementar do petróleo, é visto que os elementos majoritários são o carbono e o hidrogênio, já os minoritários são: nitrogênio (0,1-2,0% *m/m*), enxofre (0,05-6,0% *m/m*) e oxigênio (0,05-1,5% *m/m*), além de traços de metais, como vanádio, níquel, ferro e cobre, presentes em partes por milhão. Observa-se, também, que o teor de carbono é relativamente constante (83,0-87,0% *m/m*) sendo os teores de hidrogênio e heteroátomos o que confere distinção entre os óleos [23].

1.2.1 Hidrocarbonetos

O petróleo é majoritariamente composto de hidrocarbonetos, essa classe pode ser dividida em parafinas, isoparafinas, olefinas, naftênicos e aromáticos, tal classificação é conhecida pela sigla PIONA [25].

As parafinas são hidrocarbonetos alifáticos acíclicos não ramificados e ocorrem em proporções variáveis na maioria dos óleos brutos. Um óleo considerado parafínico contém entre 20 e 50% em massa de *n*-parafinas na fração gasóleo [23].

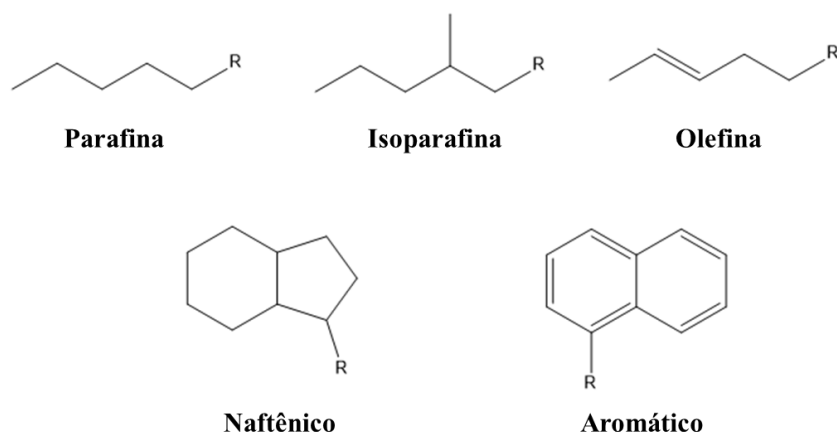
Isoparafinas se diferem das *n*-parafinas devido à presença de ramificações em sua constituição. Sua ocorrência dá-se ao longo do intervalo de ebulição das frações do petróleo e são encontradas na fração da gasolina, sendo os derivados mais abundantes 2- e 3-metil. Como há uma imensa variedade, devido a possibilidade de ocorrência de diversos isômeros, não existe em abundância uma única espécie [6-8].

As olefinas são hidrocarbonetos insaturados contendo uma ou mais ligações duplas entre os carbonos [23]. Devido à sua baixa estabilidade oxidativa, a ocorrência desta classe no óleo bruto é baixa. Contudo, sua importância para as indústria petroquímica e de polímeros cresceu nos últimos 40 anos devido à metátese de olefinas, uma reação orgânica em que é possível redistribuir fragmentos de alcenos com pouca geração de subprodutos indesejáveis [26].

Os naftênicos são hidrocarbonetos saturados, muito abundantes no óleo bruto. Diferente das parafinas, eles são compostos cíclicos, apresentando, geralmente, em sua composição anéis de cinco ou seis átomos de carbono. Esta classe pode chegar até 60% da composição total de hidrocarbonetos totais nos óleos brutos [18]. Os naftênicos mono e bicíclicos são geralmente os principais tipos de cicloparafinas nas frações inferiores de ebulição do petróleo, com ponto de ebulição e massa molecular aumentados com a presença de ramificações parafínicas [23].

A classe de aromáticos é caracterizada pela presença de um ou mais anéis aromáticos em sua estrutura, podendo estar condensados e/ou substituídos com cadeias parafínicas [23]. Eles são divididos em hidrocarbonetos monocíclicos aromáticos (MAHs), onde estão presentes o benzeno, tolueno, etilbenzeno e os xilenos (BTEX), conhecidos por serem altamente carcinogênicos e os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs), como naftaleno, fenantreno e antraceno [27].

Figura 1 - Classes de hidrocarbonetos encontrados no petróleo. **Fonte:** Própria.



1.2.2 Não hidrocarbonetos

Embora o petróleo seja majoritariamente constituído por hidrocarbonetos, os não hidrocarbonetos (5-15%) formam uma classe importante de compostos, nesta encontram-se os compostos nitrogenados, sulfurados e oxigenados, além de concentrações traços de organometálicos. Esta classe, embora minoritária, contribui bastante para vários problemas encontrados na indústria do petróleo, como corrosão, formação de emulsões e coque. Contudo, eles também podem servir como importantes marcadores [28].

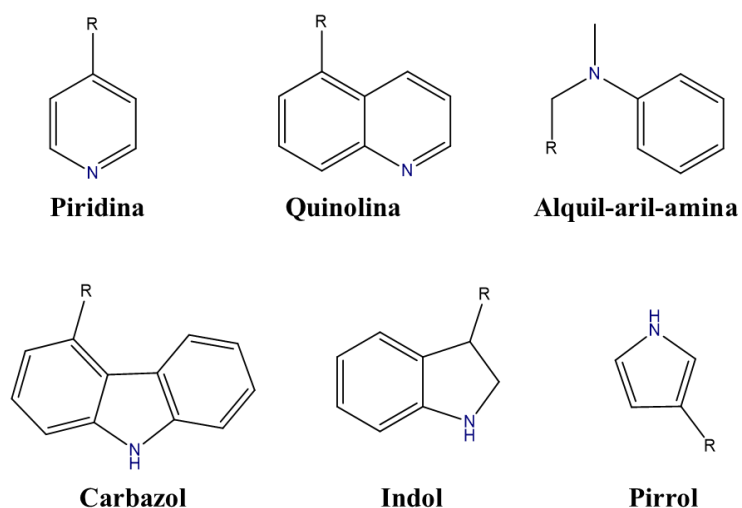
1.2.2.1 Compostos Nitrogenados

Em geral, a concentração de compostos nitrogenados no óleo bruto é baixa, variando entre 0,1-2,0% [22]. Eles podem apresentar combinações com outros heteroátomos em sua estrutura, nesse caso com enxofre ou oxigênio, gerando principalmente moléculas contendo NO, NS e NOS. Podem possuir caráter básico ou ácido. Dentre os compostos nitrogenados, as classe que apresentam natureza básica são: os derivados de piridina, alguns pirróis, os azos, as aminas primárias, os N-alquil-indóis e alquil-aril-aminas. Os compostos que apresentam caráter ácido são atribuídos aos indóis, carbazóis,

porfirinas, pirróis e a maior parte das amidas [29]. A Figura 2 ilustra algumas dessas classes de compostos.

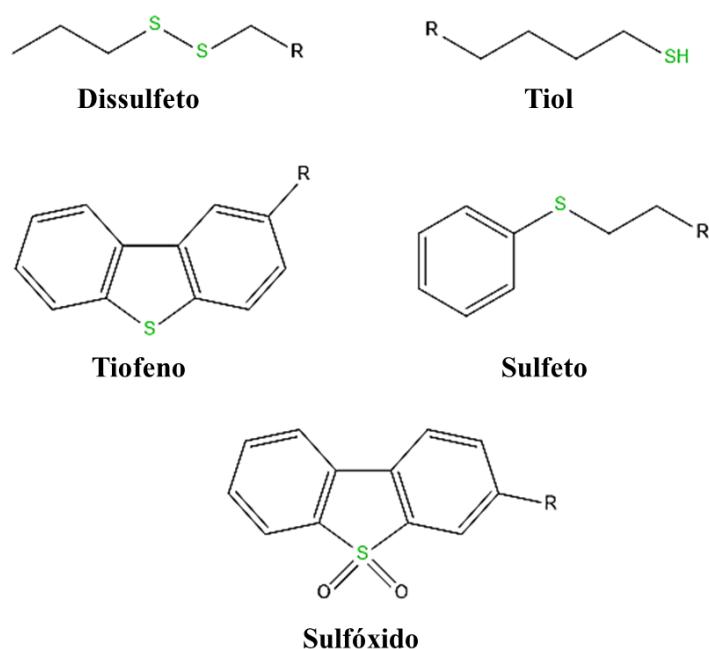
Figura 2 – Classes de compostos nitrogenados encontrados no petróleo.

Fonte: Própria.



1.2.2.2 Compostos Sulfurados

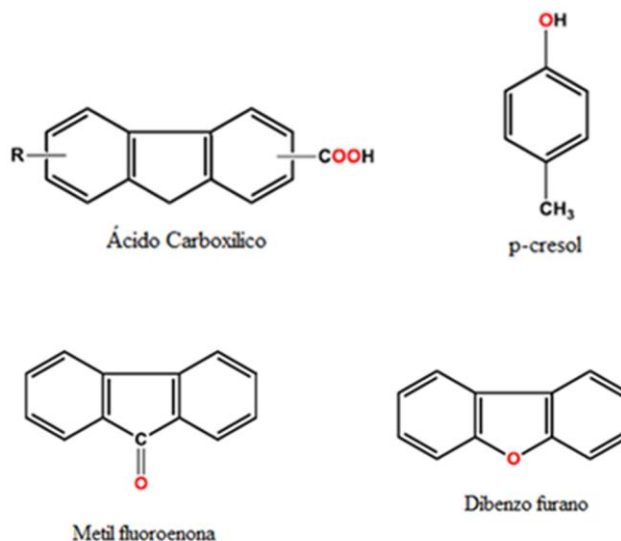
Dentre os compostos heteroatômicos do petróleo, os sulfurados estão entre os mais importantes. Em geral, quanto maior a densidade do óleo bruto, menor o °API e maior é o teor de enxofre. O enxofre total no óleo bruto pode variar de 0,04% *m/m* no petróleo bruto leve, °API maior que 30, para cerca de 5,0% para o petróleo bruto pesado, °API menor que 22 [23]. Os compostos sulfurados (Figura 3) são normalmente instáveis termicamente e estão divididos em cinco grandes classes. Os tióis, sulfetos, dissulfetos, sulfóxidos e tiofenos. Os quatro primeiros podem ser divididos em espécies cíclicas e acíclicas (alquil e aril e seus derivados), já os tiofenos correspondem aos compostos que apresentam anéis aromáticos em sua composição como benzo, dibenzo, naftobenzotiofenos e outros derivados [22].

Figura 3 – Classes de compostos contendo enxofre. **Fonte:** Própria.

1.2.2.3 Compostos Oxigenados

Da mesma forma que os compostos contendo nitrogênio e enxofre, os compostos oxigenados, Figura 4, também são associados à corrosão. Eles são quase tão abundantes quanto os compostos de enxofre. De modo geral, estão relacionados à acidez, coloração e odor. Ácidos carboxílicos (classe O₂) e fenóis (classe O₁) são os principais compostos oxigenados que compõem o petróleo. Embora os ácidos naftênicos prevaleçam, os ácidos alifáticos também estão presentes no petróleo. Os fenóis e particularmente os cresóis, também conhecidos como hidroxitoluenos ou metilfenóis, são abundantes na fração ácida do petróleo [22].

Figura 4 – Classes de compostos oxigenados encontrados no petróleo. **Fonte:** Própria.



1.3 Biomarcadores

Biomarcadores são compostos orgânicos complexos de origem associada à produtos naturais provenientes de diversas fontes, como vegetais superiores, plânctons e bactérias. Estas estruturas mesmo ao terem sofridos transformações químicas preservaram seu esqueleto carbônico original. Nesse contexto, a identificação de biomarcadores apresenta uma relação entre o precursor e o produto, que pode, mediante uma análise geoquímica, fornecer diversas informações acerca da origem e o estado do óleo [19, 20].

Mediante o uso dos biomarcadores presentes no petróleo, tais informações, como evolução térmica do óleo, tipo de matéria orgânica, biodegradação e paleoambiente de deposição podem ser extraídas. Além destes, podem ser observadas correlações acerca das interações óleo-óleo e óleo-rocha geradora. Para isso, tradicionalmente, faz-se necessário o uso do GC/MS para identificação destes parâmetros. Geralmente, eles se apresentam em forma de razões entre compostos, como as razões Pristano/*n*-C₁₈ ou Criseno/Benz(a)antraceno [1, 27].

1.3.1 Razão isoprenóides e *n*-alcanos.

Devido à preferência de degradação de compostos parafínicos de cadeia linear em relação aos isoprenóides acíclicos, pristano e fitano, em estudo de evolução térmica ou biodegradação, pode-se relacionar as razões entre isoprenóides e *n*-alcanos como parâmetro para estes fenômenos. Em óleos de biodegradação moderada, essas razões apresentam valores mais elevados que em óleos não-biodegradados. Contudo, em óleos que apresentam biodegradação severa, as razões tendem a zero devido à ausência destes compostos, observando apenas o ruído na linha de base do cromatograma [30].

Com a finalidade de acessar a biodegradação entre óleos analisados, Gonzáles-Vila *et al.* (2003) utilizou a relação entre as razões $Pr/n-C_{17}$ e $Ph/n-C_{18}$. Para o referido estudo foi observado que valores maiores que 1 são forte indicadores de atividade microbiológica [31].

1.4 Métodos Cromatográficos de Análise

A cromatografia é um método bastante consolidado na determinação de compostos químicos, ou classes de compostos, em misturas complexas [12]. Esta técnica pode ser dividida basicamente em dois tipos: cromatografia em coluna e cromatografia planar. A técnica consiste num método físico de separação em que os componentes a serem separados são distribuídos entre duas fases, uma delas é a estacionária enquanto a outra é móvel, esse se move em uma direção definida. A separação ocorre baseado na velocidade de migração desses componentes ao longo da fase móvel [32].

Para as análises de petróleo, os métodos cromatográficos, em especial a cromatografia gasosa, tem sido amplamente utilizados para os mais variados fins, como análise de hidrocarbonetos totais de petróleo (TPH) por GC-FID [33] e avaliação da biodegradação de óleos brutos, identificação de biomarcadores clássicos e monitoramento de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH) (*n*-alcanos, isoprenóides, hopanos e esteranos) por GC/MS [13-16].

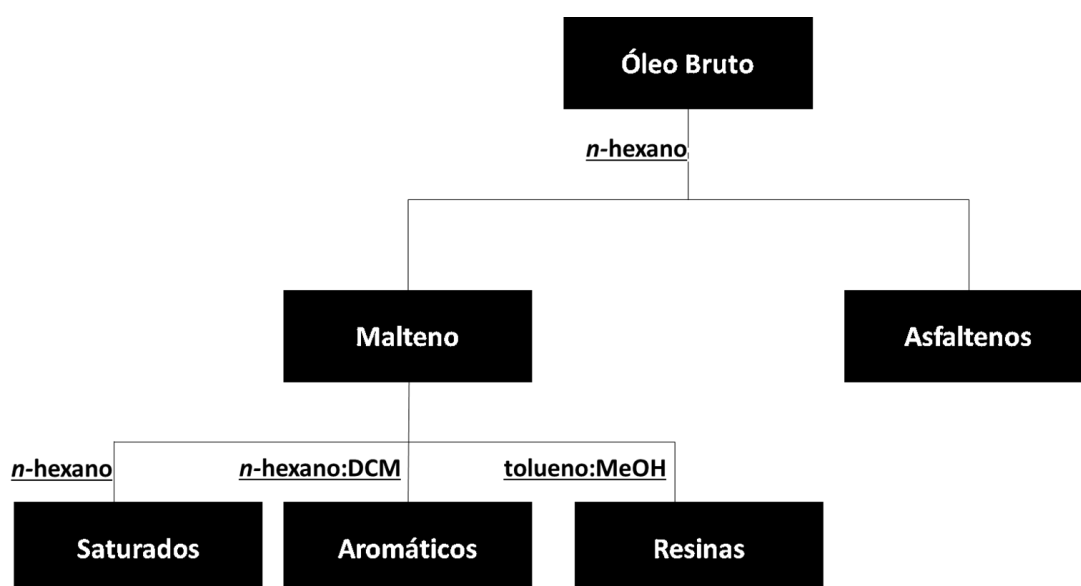
1.4.1 Fracionamento SARA

Além da cromatografia gasosa, a cromatografia em coluna aberta (OCC) é bastante utilizada no fracionamento do petróleo. Também conhecida como cromatografia líquida clássica ou cromatografia líquida por força da gravidade, a OCC é composta por uma fase estacionária contendo algum adsorvente e uma fase móvel líquida [37].

Um método bastante utilizado na separação do óleo bruto em frações é o fracionamento SARA (saturados, aromáticos, resinas e asfaltenos), onde normalmente utiliza-se sílica (SiO_2) e/ou alumina (Al_2O_3) como fase estacionária e são utilizados diferentes solventes com ordem crescente de polaridade para eluição das principais classes químicas [17-19].

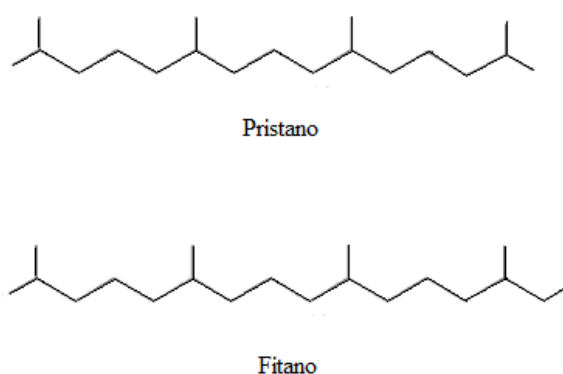
O método consiste, primeiramente, na precipitação da fração asfáltica antes de inserir o óleo no topo da coluna. Por se tratar de uma fração muito densa devido à presença de macromoléculas aromáticas policondensadas e heteroátomos em sua composição, os asfaltenos são, geralmente, precipitados utilizando solventes apolares de cadeia curta, como *n*-pentano, *n*-hexano ou *n*-heptano. O material solúvel nestes solventes, denominado malteno, contém as demais frações (saturados, aromáticos e resinas) [19-21].

Figura 5 - Procedimento do Fracionamento SARA. **Fonte:** Própria.



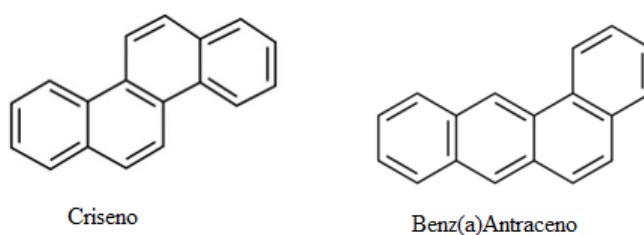
Os saturados, por se tratar de hidrocarbonetos não aromáticos, são eluídos com solventes apolares de baixa massa molecular, normalmente *n*-pentano, *n*-hexano ou *n*-heptano. Esta fração é caracterizada pela ausência de coloração ou por um branco bastante translúcido. Estão presentes nesta fração as parafinas, isoparafinas e naftênicos. As ceras são consideradas subclasse desta fração [7, 36, 37]. A Figura 6 ilustra 2 biomarcadores pertencentes a esta fração.

Figura 6 – Biomarcadores presentes na fração de saturados. **Fonte:** Própria.



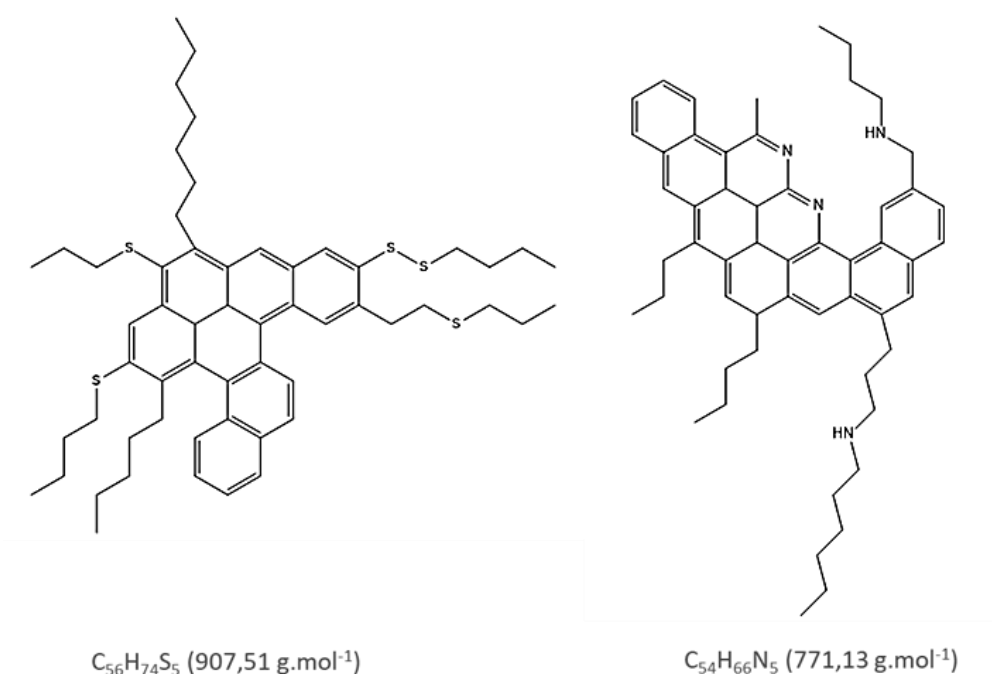
Os aromáticos são eluídos, geralmente, com benzeno, tolueno ou *n*-hexano:diclorometano. Esta fração é composta por hidrocarbonetos que contenham um ou mais anéis aromáticos em sua composição (Figura 7), desta forma, sua polaridade torna-se um pouco mais elevada em comparação aos saturados [17, 18].

Figura 7 – Biomarcadores presentes na fração de aromáticos. **Fonte:** Própria.



As resinas, Figura 8, por apresentarem compostos mais aromáticos e heteroátomos em sua composição, são eluídas com solventes mais polares ou misturas de solventes que confirmam uma maior polaridade, como metanol, tolueno:metanol, tolueno:acetona ou clorofórmio:metanol. Alguns dos maiores problemas da indústria petroquímica são causados por classes de compostos que se encontram nesta fração, como os compostos oxigenados, nitrogenados e sulfurados [11-13, 17-19, 21].

Figura 8 – Compostos presentes na fração de resinas. **Fonte:** adaptado de Silva, 2016. [36]



1.5 Espectrometria de massas de ultra-alta resolução

A espectrometria de massas é uma técnica bastante abrangente em termos de aplicações, ela se estende por várias linhas de pesquisa em diversas áreas do conhecimento, como medicina, química, biologia ou toxicologia forense [33, 34]. Além de diversas aplicações, a técnica continua em desenvolvimento, principalmente em termos de analisadores de massas e novas técnicas de ionização, o que permite resolução de problemas que antes não eram possíveis [35, 36].

A técnica de MS permite discriminar íons de acordo com suas respectivas m/z . A m/z é um número adimensional, ou seja, a razão m/z não é uma unidade e sim uma qualidade atribuída ao íon. Assim, o que é medido em espectrometria de massas é a razão m/z e não a massa de um íon em Da (Daltons). Na Figura 9 pode-se observar o esquema básico de um espectrômetro de massas.

Figura 9 - Esquema básico de um MS. **Fonte:** Própria.



O esquema apresenta: (1) a introdução da amostra que pode ser por infusão direta ou estar acoplado a um cromatógrafo, (2) a fonte de ionização das moléculas ou acúmulo dos íons, (3) um analisador de massas que separa os íons formados de acordo com a m/z ou a permanência de uma quantidade específica de íons no interior de um analisador de massas, (4) o detector que transforma o sinal em corrente elétrica (5) o processador que converte a magnitude do sinal elétrico em função da m/z . À respeito dos analisadores de massa e carga de ultra-alta resolução, como o FT-Orbitrap MS, não há a presença de detector, no próprio analisador a detecção de corrente de imagem produz um "transiente" que é convertido em um espectro de massa via transformada de Fourier [45].

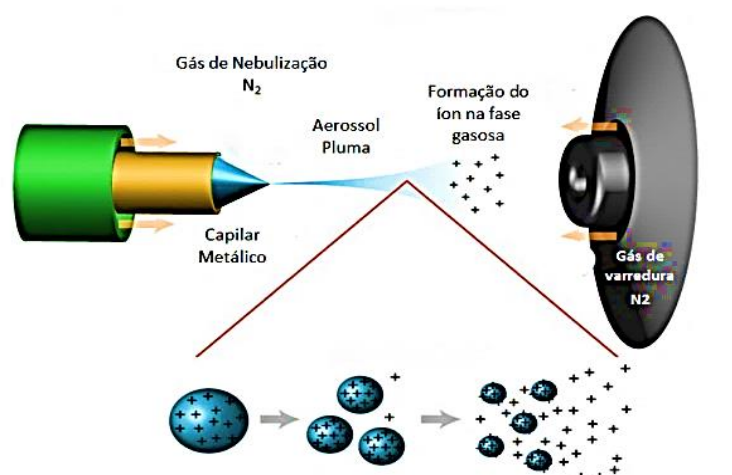
1.5.1 Fonte de Ionização por Electrospray

A Eletronebulização ou *Electrospray* (ESI) é uma técnica de ionização suave que tem por objetivo transferir os íons da fase líquida para a fase gasosa. O sistema ESI-MS é projetado para medir as razões m/z de até 4000 Da, sendo capaz de determinar a massa molecular tanto de moléculas de baixa

massa molecular quanto moléculas acima de 100.000 Da, como proteínas, ácidos nucleicos e polímeros [46] .

A solução é composta por solventes voláteis e analitos iônicos a uma concentração muito baixa, geralmente, entre 10^{-6} e 10^{-3} mol L⁻¹. Além disso, em geral, o número de cargas na molécula depende da massa dela e do número de sítios disponíveis para sua protonação, cationização ou desprotonação. Este resultado confere a ESI a possibilidade de moléculas de elevada massa molecular e policarregadas possam ser analisadas por espectrometria de massas [45]. Na Figura 10 encontra-se ilustrado o esquema da ESI.

Figura 10 - Esquema de uma fonte de ionização por "*Electrospray*". **Fonte:** Schmidt, e. [47]



O *spray* é produzido aplicando um potencial elétrico que induz o acúmulo de cargas na superfície do líquido ao final do capilar, onde são formadas gotas altamente carregadas com cargas positiva ou negativa. Um gás injetado coaxialmente permite a dispersão das mesmas e a formação do *spray* em um espaço limitado. Essas gotas atravessam uma corrente de gás quente (gás de dessolvatação), sendo o nitrogênio o mais comum, ou passam por um capilar aquecido para remover as últimas moléculas de solvente [38] .

Três processos são observados na ESI: oxidação/redução, protonação/desprotonação e a formação de adutos por coordenação de cátions e ânions como Na⁺ , Cl⁻, entre outros. Os íons formados, portanto, dependem do balanço entre esses três processos, produzindo assim moléculas protonadas [M+H]⁺ ou desprotonadas [M-H]⁻ e os adutos [M+Na]⁺ e [M+Cl]⁻,

entre outros [37]. Entretanto, na maioria dos casos, a ionização ocorre por protonação/desprotonação, sendo observado um único sinal por analito, o que torna a leitura e interpretação do espectro de massas mais simples [47].

1.5.2 Orbitrap: Analisador de massas/carga

Embora o Orbitrap seja considerado um dos mais novo analisadores de massas do mercado, os conceitos fundamentais de operação são provenientes de 1923 quando Kingdon propôs o princípio da prisão em orbital. O analisador foi apresentado pela primeira vez como uma curiosidade científica em 1999 e em 2005 foi lançado ao mercado, atuando como um analisador de alta resolução, exato e compacto. Desde então, milhares de instrumentos baseados nesta tecnologia foram produzidos e se tornou uma realidade em laboratórios analíticos de todo mundo [48].

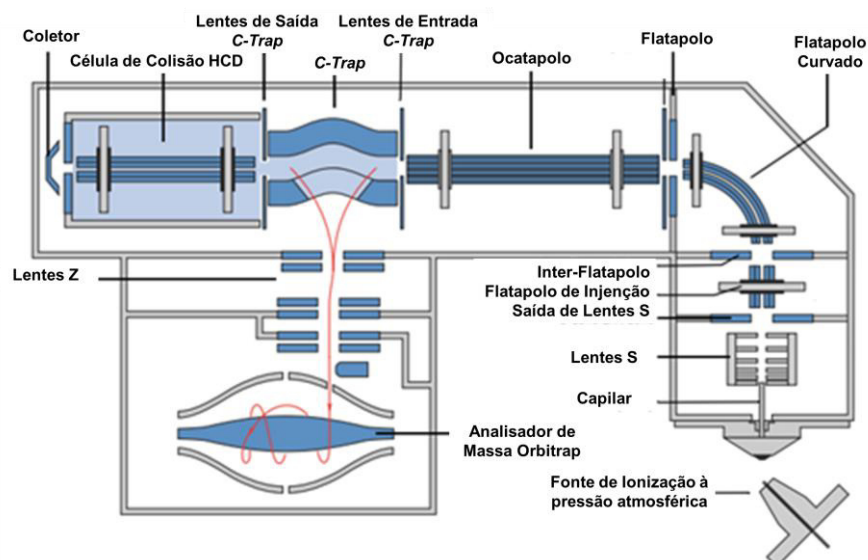
Diferente de outros analisadores, como o quadrupolo, que fazem suas análises de acordo com uma radiofrequência específica, o Orbitrap analisa os íons com base no tempo em que eles ficam confinados eletrostaticamente em torno de um eletrodo central com oscilações harmônicas. A frequência (ω) dessas oscilações axiais harmônicas ao longo do eixo Z depende apenas da relação m/z e da constante instrumental k , descrita na Equação 1 [48].

$$\omega_z = \sqrt{\frac{k}{m/z}} \quad \text{Equação 1.}$$

Os íons devem entrar no analisador de massas Orbitrap de forma bastante rápida, em forma de um funil. A parte do aparelho responsável por esse processo é o *C-trap*, conhecido como “coração” do Orbitrap. A Figura 11 ilustra o funcionamento do analisador [49].

No *C-trap*, os íons são resfriados, de modo que sua energia cinética começa a decair mediante as colisões entre os íons e o gás inerte, nitrogênio. Em seguida, esses íons são ejetados em sentido ao centro de curvatura, utilizando variações de radiofrequência para condução dos íons.

Figura 11 - Representação do “squeeze” (representado em vermelho) que ocorre do C-trap até o Orbitrap. Fonte: Michalski, A. *et al.* (2011) [50].



Por fim, uma elevada tensão é aplicada na Z-lens para gerar o fenômeno conhecido como “squeeze”, ou seja, afunilamento dos íons, para que estes entrem na forma de lâminas no analisador Orbitrap. O sinal gerado pelos íons analisados é tratado por transformada de *Fourier* (FT) [49].

1.6 Petroleômica

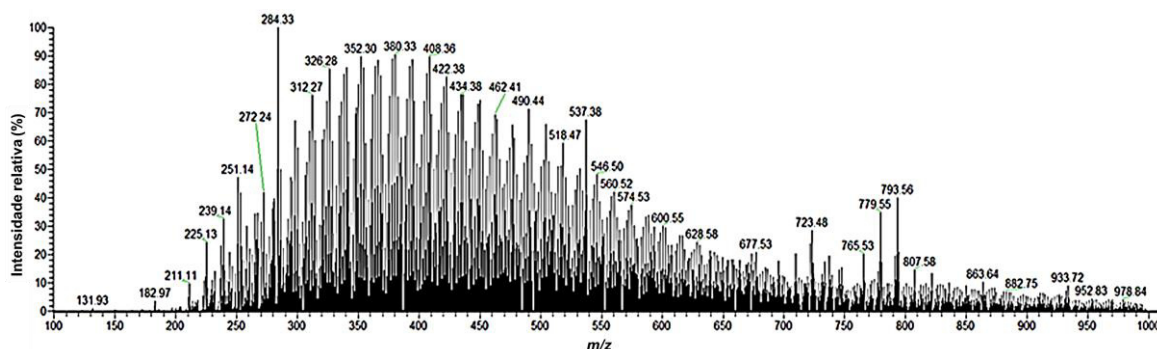
Entende-se por Petroleômica a análise detalhada acerca da composição e do comportamento do petróleo bruto e de suas frações, com o intuito de auxiliar desde os processos de exploração do óleo até seu produto final [51].

Diversos trabalhos foram recentemente publicados fazendo uso deste processo para a caracterização avançada do petróleo e com as mais diversas finalidades. Estas variam desde a investigação sobre derramamento de óleo, até o estudo de mudanças sofridas pelo óleo em contato com diferentes ambientes [30, 46, 47].

Como o espectro de massas obtido por uma técnica de FTMS contém muitos íons, Figura 12, torna-se inviável a interpretação isolada de cada um, por tanto, o processamento de dados é feito com o uso de softwares capazes de realizarem o tratamento de dados multivariados de alta complexidade, como *PetroOrg*[®], *Composer*[®] ou *PetroMS*[®]. Estes softwares são capazes de tratar os

dados e apresentá-los de uma forma onde a interpretação torna-se mais viável e menos dispendiosa [30, 45, 48].

Figura 12 – Exemplo de espectro de massas obtido por Orbitrap-MS. **Fonte:** Prórpio.



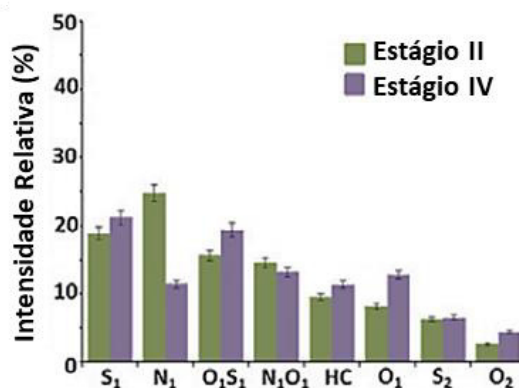
A interpretação dos dados pode ser feita de diversas formas, fazendo-se o uso de gráfico de classes, *DBE* vs Número de Carbono e diagramas de *Van Krevelen*, além de outros diagramas como o de Massa Nominal de Kendrick e Defeito de Massa de Kendrick. É importante destacar que a intensidade visualizada no espectro de FTMS não está diretamente relacionada com a quantidade de determinado analito ou classe de analito na amostra. Isso ocorre devido à intensidade do sinal ser obtida através da eficiência de ionização da molécula e não da sua quantidade. Por exemplo, se a amostra apresentar uma classe com 30% de intensidade relativa, isso não significa que há mais compostos desta classe em questão [13, 36, 46].

1.6.1 Histograma de Classes

Dentre os modos de interpretação de dados por petroleômica, o histograma de classes é o meio mais rápido de acesso à composição geral da amostra [1, 52]. Assim, por intermédio de um software, esse grupo de moléculas são agrupadas em classes, como mostra a Figura 13. Isso ocorre devido a um agrupamento de fórmulas moleculares que apresentam a mesma quantidade de heteroátomos em sua composição, por exemplo, dado o seguinte conjunto de compostos presentes em uma amostra de petróleo: $C_6H_{12}N$, $C_8H_{16}N$, C_6H_6N , $C_{25}H_{30}N$, observa-se que embora haja variação nas quantidades de C e H, a

quantidade de **N** é fixa (**N₁**), desta forma, a classe à qual esses grupo de moléculas irá estar inserido será a classe **N₁** [55].

Figura 13 - Exemplo de histograma de classes em petroleômica. **Fonte:** Islam et al. (2014) [56].



*Estágios II e IV na escala de Peters e Moldowan.

1.6.2 DBE vs Número de Carbono

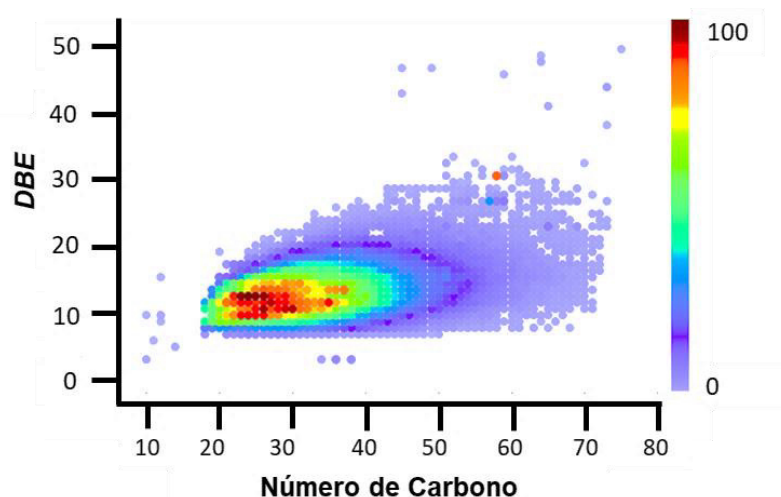
Os gráficos construídos através das equivalências de duplas ligações (*DBE* – *Double Bond Equivalent*) versus número de carbono, são outra forma amplamente utilizada para analisar espectros de petróleo bruto. O *DBE* representa o número de ligações duplas e anéis em uma determinada fórmula molecular e podem ser calculados pela seguinte equação para as fórmulas elementares $C_cH_hN_nO_oS_s$ [55]:

$$DBE = c - \frac{h}{2} + \frac{n}{2} + 1 \quad \text{Equação 2.}$$

Neste tipo de gráfico cada fórmula molecular pode ser representada como um ponto codificado por cores, dependendo da sua abundância relativa. Um exemplo de *DBE* versus plotagem de números de carbono é mostrado na Figura 14. O *DBE* é útil para compostos constituídos principalmente de carbono e hidrogênio e não denota duplas ligações entre outros elementos, como enxofre e oxigênio [55]. Uma das aplicações para interpretação deste tipo de diagrama está na utilização do limite planar do gráfico para observar a

aromaticidade geral da amostra, como é mostrado no trabalho de Santos *et al.* (2018) [54].

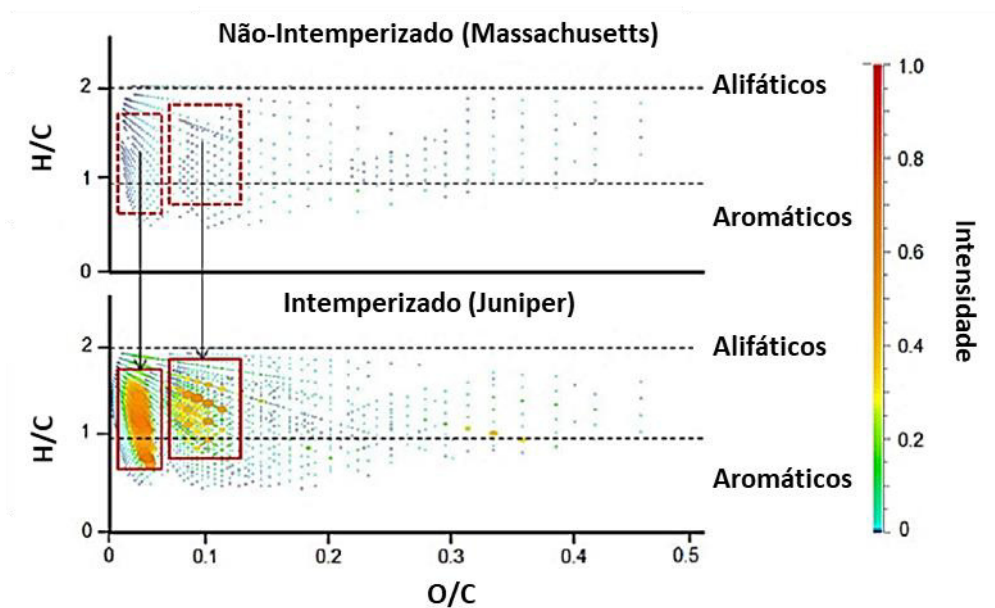
Figura 14 - Exemplos de Diagrama de *DBE* vs Número de Carbono. **Fonte:** Própria.



1.6.3 Diagrama de Van Krevelen

O diagrama de van Krevelen foi originalmente construído para dados obtidos por análise elementar em massa, somente depois que o conceito foi posteriormente expandido para gráficos tridimensionais. Um diagrama de van Krevelen é construído a partir de uma fórmula elementar traçando a relação molar de hidrogênio-carbono (razão H/C) na ordenada com a razão molar de oxigênio-carbono (razão O/C) na abcissa. Desta forma, cada pico observado em um espectro de óleo bruto é representado como um ponto no diagrama. Além disso, a abundância relativa observada em um determinado espectro pode ser codificada por cores. Diagramas de Van Krevelen construídos a partir de espectros de petróleo bruto são apresentados na Figura 15, onde é possível observar uma das aplicações utilizadas para este tipo de gráfico, nela os autores fizeram uma comparação entre um óleo não-biodegradado com um óleo biodegradado, mediante a plotagem da razão H/C vs O/C foi observado um aumento na oxigenação da amostra para um óleo biodegradado [1].

Figura 15 - Exemplo de aplicação do Diagrama de Van Krevelen. **Fonte:** Huba e Gardinali (2016) [1].



2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar as variações na composição molecular de dois óleos brutos distintos durante as primeiras 72 horas de exposição à dois ambientes aquáticos diferentes, um marinho e outro fluvial.

2.2 Objetivos específicos

- Realizar simulações de vazamento de óleo bruto em água fluvial e marinha durante 72 horas.
- Coletar amostras do óleo nos tempos de 0, 1, 12, 24, 48 e 72 horas.
- Caracterizar os óleos mediante fracionamento SARA.
- Determinar as mudanças na composição elementar dos óleos.
- Avaliar os perfis cromatográficos da fração de saturados por GC-FID e das amostras ao longo das simulações de vazamento.
- Verificar as mudanças na composição molecular da fração resinóica ao longo das simulações de vazamento por ESI-FTMS.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostras

3.1.1 Óleo Bruto

As amostra de óleo foram obtidas a partir de linhas de produção da Unidade Operacional de Sergipe e Alagoas (UO-SEAL) situadas no estado de Sergipe. As amostra foram armazenada, à temperatura ambiente, em um frasco de vidro âmbar com capacidade para 160 mL. Os óleos escolhidos apresentam diferentes °API, sendo o UOSEAL-01 um óleo médio (°API = 27,0) e o óleo AM-0453 um óleo pesado (°API = 20,9), os dados referentes aos °API foram fornecidos pela PETROBRAS. Estes óleos foram escolhidos para avaliar a influência do °API sob o comportamento quando expostos aos mesmos ambientes estressores.

3.1.2 Águas

As amostras de águas foram obtidas em duas localidades, armazenadas em garrafas de Polietileno tereftalato e preservadas em temperatura ambiente. A amostra de água salina foi coletada na Praia da Atalaia, Aracaju – SE, 10°58'48.9"S 37°02'12.2"W, e a amostra de água fluvial foi coletada no rio Poxim, São Cristóvão – SE, 10°55'21.9"S 37°05'50.1"W. Na tabela 1 é apresentada a caracterização microbiológica das amostras, onde é possível observar uma maior concentração de microrganismos para a água de origem fluvial.

Tabela 1- Caracterização microbiológica das águas do rio e mar.

Amostra	Coliformes Totais (NMP/100mL)	Coliformes Termotolerantes (NMP/100mL)	Bactérias heterotróficas (UFC/mL)
Rio Poxim	$7,9 \times 10^4$	$6,8 \times 10^3$	$1,3 \times 10^5$
Praia da Atalaia	< 1,8	< 1,8	< $1,0 \times 10^2$

NMP: Número Mais Provável; UFC: Unidade formadora de colônia.

3.2 Simulação de vazamento de óleo

Os ensaios de vazamento de óleo bruto foram realizados em béqueres de 250 mL, onde foram adicionados 100 mL de água do mar (salgada) a um deles e o mesmo volume de água de rio (doce) em outro. Após isso, foram adicionados 2,5 g de óleo bruto à superfície da água. A escolha desta proporção foi baseada em trabalhos semelhantes presentes na literatura, como o de Islam *et al.* (2013) e Soloviev *et al.* (2016) [54,55]. O sistema foi posto sob agitação magnética e com incidência de luz, conforme as condições experimentais descritas na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições estabelecidas para a simulação de vazamento.

Parâmetro	Condição 1
Fonte de luz	Lâmpada Incandescente 60 W
Temperatura de Incidência	28 °C
Temperatura da sala	18 °C
Agitação	30 rpm
Distância da fonte de luz	10 cm
Intervalo de incidência da luz	12 horas
Tempo Total de Exposição	72 horas

A coleta do óleo foi executada nos tempos de 0, 1, 12, 24, 48 e 72 horas. Com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, foram efetuadas raspagens circulares sobre a superfície do óleo, evitando o máximo de contato com água para não afetar as análises posteriores. Aproximadamente 100 mg de óleo bruto foram coletados em cada um destes tempos mencionados e armazenados em frascos de vidro de 5 mL.

3.3 Caracterização Química

A metodologia SARA adotada foi adaptada da realizada por Silva (2018) [30]. O processo de extração das frações de Saturados, Aromáticos e Resinas deu-se sem a prévia eliminação dos voláteis e precipitação do asfalto. Assim, 10 mg do óleo bruto foram transferidos para o topo de uma coluna cromatográfica de 12,5 cm de comprimento e 0,6 cm de diâmetro, preenchida

com 500 mg de sílica *flash* G60 pulverizada, peneirada a 115 *mesh*, a qual foi previamente ativada a 400 °C por 4 h em mufla e desativada pela adição de 5% (*m/m*) de água destilada, empacotada com auxílio de *n*-hexano. Para coletar as frações de eluição, utilizou-se frascos de 2 mL. Os solventes utilizados como fase móvel foram *n*-hexano, *n*-hexano:diclorometano (7:3) e tolueno:MeOH (1:1). As eluições foram feitas empregando 2 mL de solvente, ou de suas respectivas misturas, para cada fração, e em seguida as frações tiveram o solvente evaporado sob fluxo de nitrogênio.

Depois do fracionamento SARA, cada fração teve sua massa determinada e convertida na composição percentual relativa de saturados, aromáticos e resinas. As medidas foram feitas em triplicata. A equação 1 foi utilizada para determinar a composição percentual das frações.

$$\% \text{Fração} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \times 100 \quad \text{Equação 3.}$$

Onde, m_1 é a massa do óleo bruto utilizada no fracionamento e m_2 é a massa obtida da fração em questão (Saturados, Aromáticos ou Resinas).

3.3.1 *Análise por Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização por Chama*

As frações de saturados obtidas pelo método SARA foram aferidas para uma concentração de 5 mg mL⁻¹ e analisados em um sistema GC×GC-FID (LECO/Agilent 7890A). A aquisição e o processamento de dados foram realizados com o software ChromaTOF 4.34. Os óleos brutos foram aferidos para uma concentração de 5 mg mL⁻¹. Para as análises em uma dimensão cromatográfica, o sistema operou seguindo as condições descritas na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros de operação do sistema GC×GC-FID.

Coluna	DB - 5MS (5% difenil, 95% dimetil polisiloxano) com 30 m, 0,25 mm di. 0,25 µm
Programação de Temperatura do forno	70 °C (1,0 min); 20 °C min ⁻¹ até 170 °C (0 min); 2 °C min ⁻¹ a 300 °C (10 min)

primário	
Temperatura do forno	80 °C (1 min); 20 °C min ⁻¹ a 180 °C (0 min); 2
secundário	°C min ⁻¹ a 300 °C (15 min)
Temperatura do Injetor	290 °C
Modo de Operação	<i>Split</i> (1:10)
Gás de arraste	Hidrogênio
Fluxo do gás de arraste	1,0 mL min ⁻¹
Temperatura da Interface	290 °C
Volume de injeção	1 µL
Tempo de Análise	81 min

3.3.2 Análise elementar das mudanças ocorridas no óleo bruto

A análise elementar das amostras foram realizadas em um CHN628 da LECO e os resultados foram tratados no Software CHN628 versão 1.30. O equipamento operou com Hélio (99,995%) e Oxigênio (99,99%) com a temperatura do forno primário em 950 °C e do *Afterburner* em 850 °C. Outros parâmetros foram ajustado para uma melhor sensibilidade. O equipamento foi calibrado com um padrão de EDTA (41,0% C, 5,5% H e 9,5% N) usando um range de massa entre 10-200 mg. As amostras foram analisadas pesando-se aproximadamente 50 mg em uma folha de estanho.

3.3.3 Análise das frações resinóicas por Espectrometria de Massas de Ultra-alta Resolução (UHRMS)

3.3.3.1 Sistema Exactive HCD Plus

As análises das frações resinóicas do óleo UOSEAL-01 e do óleo AM-O453 foram realizadas em um sistema Exactive HCD Plus (Thermo Scientific, Bremen, Germany), por infusão direta utilizando uma seringa de 500 µL (Thermo Scientific, NJ, EUA) a um fluxo de 30 µL min⁻¹. A fonte de ionização utilizada foi o *Electrospray* Aquecido (HESI). A amostra foi dissolvida numa mistura de tolueno:metanol (1:3 v/v) produzindo um solução de 125 µg mL⁻¹. As condições de análise desenvolvidas para o modo ESI(+) foram: voltagem na fonte de 35 eV, voltagem do spray de 4,0 kV, aquecimento da região de

vaporização a 30 °C, temperatura capilar de 350 °C, *sheath gas* e gás auxiliar a 3 e 35 psi, respectivamente. Para o modo ESI(-) as condições foram: voltagem do *spray* de 3,5 kV, aquecimento da região de vaporização a 30 °C, temperatura capilar de 350 °C, *sheath gas* e gás auxiliar a 3 e 35 psi, respectivamente. O espectro de massas final, para cada amostra, foi obtido através da subtração do espectro de massas do branco. A atribuição de fórmulas moleculares para os íons foram realizadas utilizando o software PetroMS, considerando um erro menor que 3 *ppm* na correspondência entre o valor de *m/z* experimental e o valor de *m/z* teórico da biblioteca.

3.3.3.2 Sistema Q-Exactive

As análises acerca das mudanças na composição molecular referente às frações resinóicas do óleo UOSEAL-01 foram executadas no laboratório ThoMSon, na UNICAMP, em um espectrômetro de massas modelo Q Exactive (Thermo Scientific, Bremen, Germany) utilizando como fonte de ionização o ESI operando em ambos os modos, positivo e negativo. A amostra, injetada por infusão direta, foi dissolvida numa mistura de tolueno:metanol (1:1 v/v) produzindo um solução de 400 µg mL⁻¹. Os dados de ESI-FTMS foram coletados utilizando as seguintes condições: voltagem do capilar a +3,5 e -3,8 kV, RF da S-lens a 50 e temperatura do capilar a 320 °C. O nitrogênio foi utilizado como gás nebulizador. A aquisição do espectro de massas foi operada no modo *full scan* com resolução de 140.000 *FWHM* a *m/z* 200, numa faixa de *m/z* 100-1000 utilizando o software Xcalibur 3.0 e um total de 100 µscan foram acumulados em cada análise. A aquisição e processamento dos dados obtidos estão detalhadas no item acima.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Efeito da ação do ambiente aquático na distribuição SARA de óleos brutos

4.1.1 Avaliação da classificação SARA do óleo UOSEAL-01

Os dados obtidos através do fracionamento SARA do óleo UOSEAL-01 em contato com as águas do mar e do rio, são apresentados nas Tabelas 4 e 5, respectivamente. Os dados são resultantes do fracionamento SARA realizado em triplicata e os desvios nas medidas são apresentados com o nível de confiança de 95%.

Tabela 4 - Distribuição SARA do óleo UOSEAL-01 em contato com água do mar.

Tempo de Contato	Saturados (%)	Aromáticos (%)	Resinas (%)	Recuperação (%)
0 h	57,8 ± 0,6	13,9 ± 0,5	18,7 ± 0,7	90,4 ± 0,6
1 h	57,3 ± 0,7	13,6 ± 0,3	18,8 ± 0,3	90,0 ± 0,7
12 h	56,3 ± 0,7	13,2 ± 0,7	19,0 ± 1,1	89,0 ± 1,1
24 h	56,3 ± 0,7	13,2 ± 0,9	19,9 ± 0,5	90,3 ± 1,7
48 h	55,7 ± 0,7	12,6 ± 0,6	20,1 ± 0,6	89,0 ± 3,0
72 h	55,3 ± 0,5	12,2 ± 0,5	20,2 ± 0,8	87,7 ± 1,3

* n = 3 (Intervalo de confiança a 95%).

Tabela 5 - Distribuição SARA do óleo UOSEAL-01 em contato com água do rio.

Tempo de Contato	Saturados (%)	Aromáticos (%)	Resinas (%)	Recuperação (%)
0 h	57,8 ± 0,6	13,9 ± 0,5	18,7 ± 0,7	90,4 ± 0,6
1 h	57,8 ± 0,3	13,1 ± 0,4	18,3 ± 0,7	89,2 ± 0,7
12 h	55,9 ± 0,5	12,4 ± 0,7	19,3 ± 0,3	87,0 ± 1,1
24 h	52,4 ± 0,5	12,6 ± 0,3	20,2 ± 0,2	90,3 ± 1,7
48 h	49,0 ± 1,1	11,8 ± 1,0	19,3 ± 0,3	89,0 ± 3,0
72 h	48,6 ± 0,6	12,4 ± 0,5	20,4 ± 0,5	87,7 ± 1,3

* n = 3 (Intervalo de confiança a 95%).

A análise do comportamento da distribuição das classes do óleo bruto nos dois ambientes, considerando cada uma das classes envolvidas, está apresentado na sequência.

4.1.1.1 Fração de saturados.

Ao longo do experimento de simulação de vazamento do óleo nas águas, do mar e do rio, tornou-se evidente o comportamento distinto entre as modificações sofridas pelo óleo em cada ambiente de contato, como é mostrado na Figura 16.

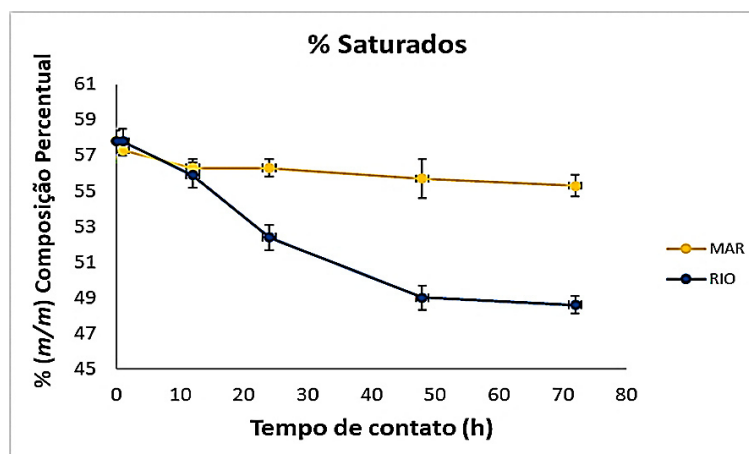
Enquanto que o óleo em contato com a água salina obteve um leve decaimento percentual na fração de saturados, aproximadamente 4% (*m/m*), no ambiente fluvial, esse decaimento foi mais acentuado, atingindo aproximadamente 16% (*m/m*). Em comparação com os dados obtidos por Islam *et al.* (2013), onde nenhuma alteração percentual foi atribuída à fração de saturados, é observado uma concordância entre resultados somente para o óleo em contato com o meio salino. Entretanto, para o ambiente fluvial, onde mudanças na composição percentual desta fração foi observada, é visto uma tendência contrária ao que fora reportado pelos autores [56].

Estima-se que o decaimento em 16% (*m/m*) observado na fração de saturados para o óleo UOSEAL-01 que teve contato com o ambiente fluvial, tenha relação à presença mais acentuada de fungos e bactérias neste meio. Varjani (2017) mostrou em sua revisão que diversos microorganismos possuem a habilidade de degradar compostos parafínicos, tendo *n*-alcanos como preferência devido à sua baixa complexidade, catabolizando-os a fim de obter energia ou acumular biomassa para as células [24]. Assim, o processo de biodegradação, dentre todos os outros processos de intemperismo que ocorrem sobre o óleo, como evaporação, dissolução e foto-oxidação, é mais favorecido neste tipo de ambiente, devido à população de microorganismos ser maior [58].

Contudo, o mesmo processo não pode ser aplicado para o óleo que teve contato com a água do mar, onde essa população não é tão densa como na água doce, deste modo, o leve decaimento na fração de saturados pode ser

atribuído a outros processos, como evaporação e foto-oxidação, sendo este último muito menos acentuado que o primeiro mencionado [45].

Figura 16 - Evolução da fração de saturados do óleo UOSEAL-01 submetidos aos dois ambientes estudados.



4.1.1.2 Fração de aromáticos

As mudanças observadas para a fração de aromáticos nos diferentes ambientes, da mesma forma que o ocorrido nos saturados, foi distinta para cada um, como ilustram as Figuras 17 e 18.

No ambiente marinho (Figura 17) a diminuição na fração de aromáticos foi quase linear, sugerindo que esta classe de compostos é removida mais facilmente do óleo no ambiente salino do que quando comparado ao ambiente fluvial (Figura 16), onde essa remoção pode ser atribuída a duas etapas. O óleo bruto teve uma diminuição na fração de aromáticos de aproximadamente 12% (*m/m*) para o ambiente marinho enquanto que na água do rio, houve uma diminuição de ~11% (*m/m*).

Observa-se na Figura 18 um aumento nos tempos de 24 e 72 horas para a fração de aromáticos, contudo, este aumento pode ser considerado um platô, visto que os desvios das medidas entre os tempos de 48 e 72 horas estão na mesma faixa ($11,80 \pm 1,04 \sim 12,39 \pm 0,45$), e o mesmo comportamento é visto nos tempos de 12 e 24 horas ($12,43 \pm 0,75 \sim 12,64 \pm 0,31$). Ambos os casos são concordantes com o trabalho de Islam *et al.* (2013), onde a fração de

aromáticos também sofre uma redução percentual, contudo, no referido trabalho a diminuição dessa fração é de quase 45% (*m/m*).

Estes fenômenos podem ser atribuídos à dois processos que são bem estudados na literatura, a foto-oxidação e a biodegradação. Ambos podem estar presentes e, deste modo, serem responsáveis por esta diminuição na fração de aromáticos. Contudo, estes processos apresentam efeitos opostos nos hidrocarbonetos aromáticos em óleos brutos. Enquanto a biodegradação resulta na redução de compostos aromáticos não substituídos em relação aos seus homólogos alquilados, a foto-oxidação degrada seletivamente os compostos aromáticos alquilados. Assim, é concebível que um óleo foto-oxidado e biodegradado possa mostrar um perfil de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos muito parecido com o "*fingerprint*" para um óleo fresco [59].

Figura 17 - Evolução da fração de aromáticos do óleo UOSEAL-01 exposto ao ambiente marinho.

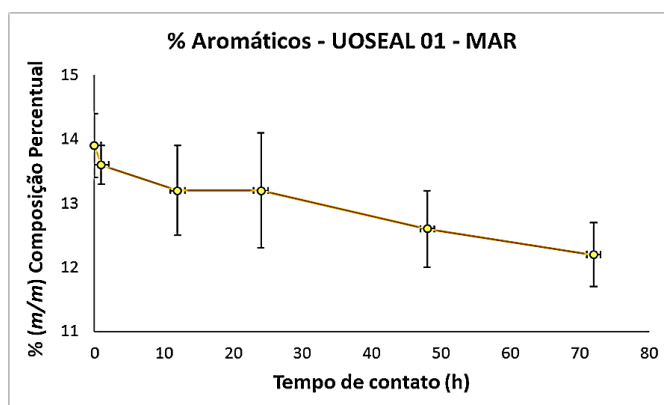
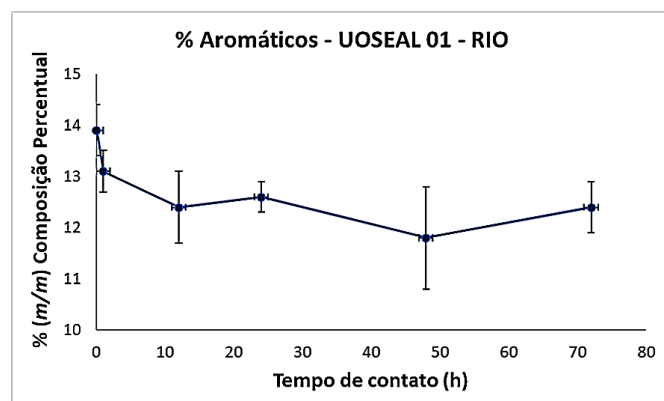


Figura 18 - Evolução da fração de aromáticos do óleo UOSEAL-01 exposto ao ambiente fluvial.



4.1.1.3 Fração de resinas

Acerca da fração resinóica, para ambos os ambientes o comportamento foi o mesmo, o aumento desta fração, como pode ser visto nas figuras 19 e 20, para o ambiente do mar e do rio, respectivamente. Para o óleo em contato com a água do mar o aumento foi de aproximadamente 8% (*m/m*), enquanto que o óleo em contato com ambiente fluvial sofreu um aumento de aproximadamente 9% (*m/m*).

Esse comportamento é semelhante ao descrito na literatura, nela é relatado um aumento desta fração a medida que o óleo vai passando pelos processos de intemperismo [49, 54]. A esse fenômeno foram atribuídas duas hipóteses acerca deste aumento:

1 – O aumento da fração resinóica dá-se de forma absoluta, onde foto-oxidação sofrida pelos compostos aromáticos alquilados geram produtos de oxidação que acabam aumentando a porcentagem da fração resinóica presente no óleo [16].

2 - O aumento da fração resinóica dá-se de forma relativa, ou seja, a medida que as frações de saturados e aromáticos decrescem, a fração de resinas aumenta. Desta forma, o aumento absoluto é um equívoco. Por tanto, o aumento seria fruto de uma compensação de massa e, assim, as modificações observadas a nível molecular seriam fruto de uma maior eficiência de ionização em relação à presença percentual mais elevada na fração.

Figura 19 - Evolução da fração de resinas no óleo UOSEAL-01 submetido ao ambiente marinho.

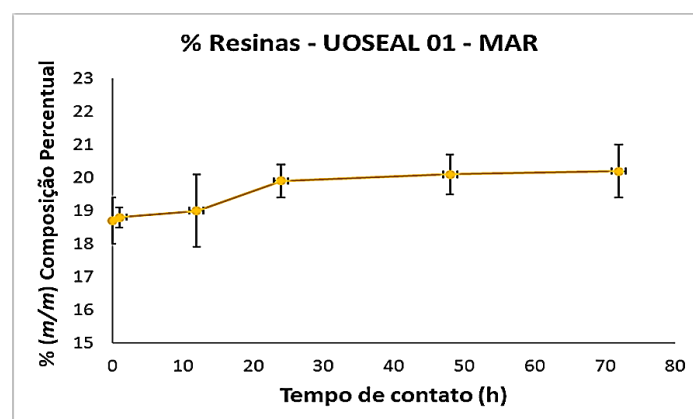
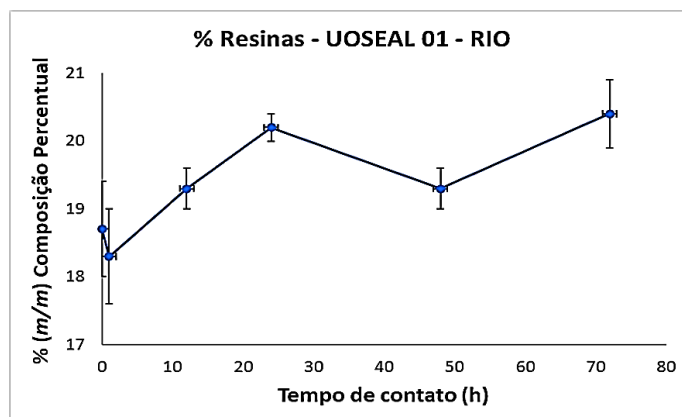


Figura 20 - Evolução da fração de resinas no óleo UOSEAL-01 submetido ao ambiente fluvial.



Para avaliar as contribuições de ambas hipóteses na justificativa do aumento na fração resinóica, foram realizadas análises por espectrometria de massas de ultra-alta resolução.

4.1.2 Avaliação da classificação SARA do óleo AM-0453

Os dados obtidos através do fracionamento SARA do óleo AM-0453 em contato com as águas do mar e do rio, são apresentados nas Tabelas 6 e 7, respectivamente. Os dados são resultantes do fracionamento SARA realizado em triplicata e os desvios nas medidas são apresentados com o nível de confiança de 95%.

Tabela 6 - Distribuição SARA do óleo AM-0453 em contato com água do mar.

Tempo de Contato	Saturados (%)	Aromáticos (%)	Resinas (%)	Recuperação (%)
0 h	53,3 ± 1,1	12,6 ± 0,6	22,9 ± 0,3	88,8 ± 0,4
1 h	51,3 ± 0,4	12,3 ± 0,6	22,3 ± 0,5	85,9 ± 1,1
12 h	52,3 ± 0,4	11,2 ± 0,2	22,5 ± 0,4	86,1 ± 0,7
24 h	51,8 ± 0,8	11,7 ± 0,3	22,8 ± 0,4	87,9 ± 0,7
48 h	52,8 ± 0,3	11,9 ± 0,7	23,2 ± 0,5	87,9 ± 0,4
72 h	53,1 ± 0,5	12,0 ± 0,8	23,2 ± 0,3	88,4 ± 0,3

* $n = 3$ (Intervalo de confiança a 95%).

Tabela 7 - Distribuição SARA do óleo AM-0453 em contato com água do rio.

Tempo de Contato	Saturados (%)	Aromáticos (%)	Resinas (%)	Recuperação (%)
0 h	53,3 ± 1,1	12,6 ± 0,6	22,9 ± 0,3	88,8 ± 0,4
1 h	52,5 ± 0,6	12,2 ± 0,2	23,6 ± 0,4	89,7 ± 0,5
12 h	53,0 ± 1,1	13,1 ± 0,9	24,0 ± 1,2	89,3 ± 0,6
24 h	52,1 ± 0,5	13,4 ± 1,0	23,8 ± 1,0	89,9 ± 0,9
48 h	52,2 ± 0,9	13,5 ± 0,6	24,2 ± 0,3	87,8 ± 1,2
72 h	50,7 ± 0,8	11,7 ± 0,6	25,3 ± 1,3	88,3 ± 0,3

* $n = 3$ (Intervalo de confiança a 95%).

A análise do comportamento da distribuição dos componentes do óleo bruto nos dois ambientes será discutido na sequência, considerando cada uma das classes envolvidas, conforme segue.

4.1.2.1 Fração de saturados.

Em consonância com o que foi discutido sobre as mudanças sofridas pela fração de saturados do óleo UOSEAL-01 (item 4.1.1.1) e com o trabalho de Islam *et al.* (2013), nenhuma mudança foi observada para a fração de saturados do óleo AM-0453 em contato com ambiente marinho, como mostra a Figura 21. O mesmo pode ser dito para o referido óleo em contato com o ambiente fluvial, visto que a diminuição foi de aproximadamente 4% (*m/m*), como mostrado na Figura 22.

Figura 21 - Evolução da fração de saturados no óleo AM-0453 submetido ao ambiente marinho.

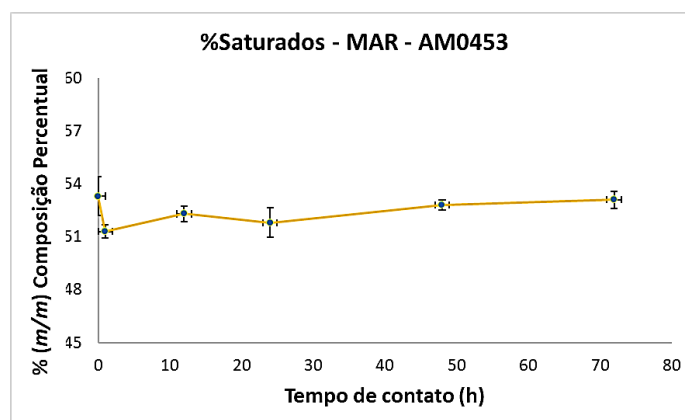
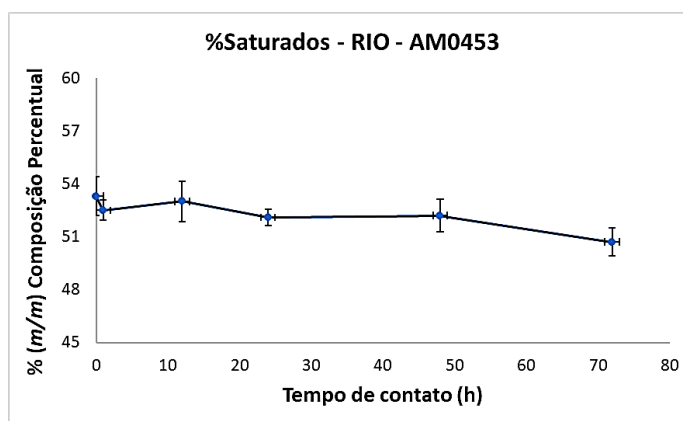


Figura 22 - Evolução da fração de saturados no óleo AM-0453 submetido ao ambiente fluvial.

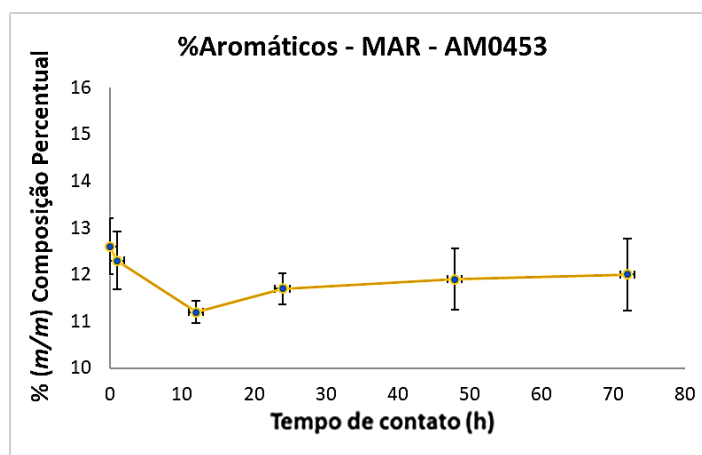


Contudo, quando comparados os comportamentos dos óleos UOSEAL-01 e AM-0453 expostos ao mesmo ambiente (água do rio) a diferença entre as interações óleo-ambiente foi bastante perceptível. Avaliando-se a natureza dos óleos, o AM-0453 é um óleo pesado, enquanto que o óleo UOSEAL-01 é um óleo médio. Partindo deste aspecto, pode-se inferir que a biodisponibilidade de parafinas pouco complexas e leves é menor no primeiro em relação ao segundo. Assim, a quantidade de nutrientes catabolizáveis pelas espécies microbiológicas presentes no meio fluvial é menor no óleo AM-0453, sendo assim o leve decaimento de 4% (*m/m*) observado para este óleo pode estar associado à natureza do mesmo [25, 55].

4.1.2.2 Fração de aromáticos.

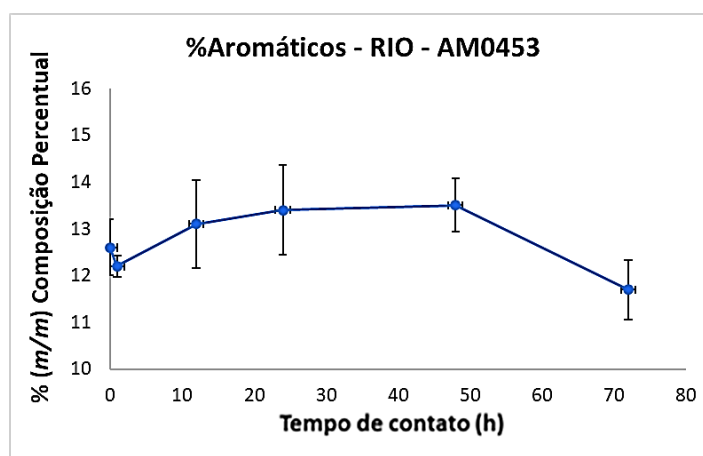
No ambiente marinho (Figura 23), ocorreu uma diminuição linear até 12 horas, porém, a partir deste tempo foi observado um leve aumento até 72 h. Avaliando-se apenas a mudança global, comparando o óleo bruto com o tempo de 72 h, foi atribuída uma diminuição percentual de aproximadamente 5% (*m/m*). Ao contrário do que foi observado no óleo UOSEAL-01 (item 4.1.1.2), essa diminuição não foi linear, e por tanto, os compostos aromáticos presentes nesse óleo não são tão susceptíveis à degradação, seja ela microbiológica ou por foto-oxidação.

Figura 23 - Evolução da fração de aromáticos do óleo AM-0453 exposto ao ambiente marinho.



Quando observada a evolução da fração de aromáticos do óleo AM-0453 em contato com o ambiente fluvial (Figura 24), o comportamento é bem diferenciado. O óleo sofre um aumento percentual de 7% (*m/m*) até 48 h e, em seguida, uma diminuição de 13% (*m/m*) em 72 h. Avaliando-se apenas a mudança global, essa diminuição é de aproximadamente 7% (*m/m*).

Figura 24 - Evolução da fração de aromáticos do óleo AM-0453 exposto ao ambiente fluvial.



4.1.2.3 Fração de resinas

Acerca da fração resinóica, não foi observada alterações na composição percentual da fração de resinas para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente marinho, apenas um aumento leve de 1% (*m/m*), como mostra a Figura 25. De modo diferente, para o referido óleo em contato com o ambiente

fluvial o aumento na composição percentual para a fração de resinas foi de 10% (m/m) (Figura 26), similar aos trabalhos de Lemkau *et al.* (2014) e Islam *et al.* (2013), em ambos os trabalhos o aumento da fração resinóica foi associado a deaquiração lateral de compostos aromáticos seguindo a rota de biodegradação aeróbica via Acetil-CoA [25, 49, 52, 56].

Figura 25 - Evolução da fração de resinas no óleo AM-0453 submetido ao ambiente marinho.

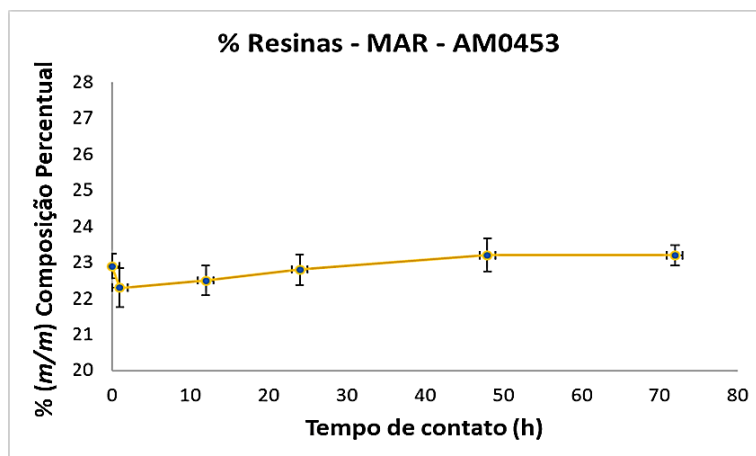
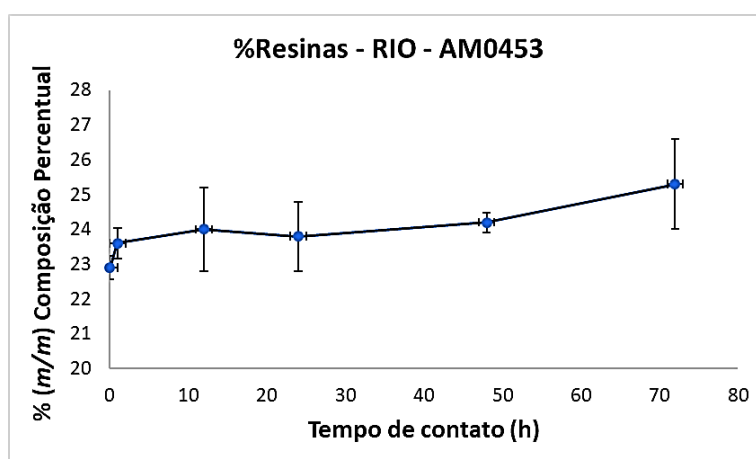


Figura 26 - Evolução da fração de resinas no óleo AM-0453 submetido ao ambiente fluvial.



4.2 Análise Elementar

A análise elementar detectou mudanças associadas à constituição da amostra, ou seja, o percentual em massa de carbono, hidrogênio, nitrogênio,

enxofre e oxigênio que sofreram alterações mediante um processo de interação entre os óleos e os ambientes, marinho e fluvial.

Os resultados das análises são mostrados nas Tabelas 8 e 9 para o UOSEAL-01. Nelas é possível observar o decaimento de aproximadamente 16% (*m/m*) no percentual de carbono total para o óleo bruto, independente do ambiente de contato.

Tabela 8 - Análise elementar do óleo bruto UOSEAL-01 em contato com o ambiente fluvial.

Tempo (h)	%C	%H	%N	%S*	%O	O/C
0	81,77	12,28	0,28	0,54	5,13	0,05
1	80,20	12,16	0,28	0,54	6,82	0,06
12	72,15	11,51	0,23	0,54	15,57	0,16
24	71,41	11,47	0,21	0,54	16,37	0,17
48	68,19	12,01	0,18	0,54	19,08	0,21
72	68,49	12,01	0,24	0,54	18,72	0,21

*Dados obtidos em trabalhos anteriores do grupo [62] .

Tabela 9 - Análise elementar do óleo bruto UOSEAL-01 em contato com o ambiente marinho.

Tempo (h)	%C	%H	%N	%S*	%O	O/C
0	81,77	12,28	0,277	0,54	5,13	0,05
1	69,62	12,08	0,15	0,54	17,61	0,19
12	72,54	11,79	0,24	0,54	14,89	0,15
24	70,48	11,96	0,15	0,54	16,87	0,18
48	69,25	11,86	0,23	0,54	18,12	0,20
72	68,22	11,77	0,20	0,54	19,27	0,21

*Dados obtidos em trabalhos anteriores do grupo [62].

Por se tratar de um óleo parafínico médio essa diminuição pode ser atribuída a um conjunto de processos que ocorrem sobre o óleo, como evaporação dos compostos mais voláteis e a solubilização de alguns compostos com coeficiente de partição em água suficientemente forte para migrar do meio oleoso para o meio aquoso. Essa diminuição observada para o teor de carbono corrobora com os resultados obtidos no fracionamento SARA, onde há a diminuição das frações de aromáticos e saturados para ambos os

ambientes, o que justificaria uma redução percentual tão significativa no teor de carbono do óleo.

Nas tabelas acima também podem ser observado o aumento na razão O/C, o que justifica o aumento das resinas como sendo um aumento percentual e não através do ganho de massa mediante a foto-oxidação de compostos aromáticos, pois se for levado em conta que a amostra possui aproximadamente 10% (*m/m*) de voláteis, então a perda de carbono seria fruto desse processo e auxiliado pela solubilização de alguns compostos aromáticos no meio aquoso.

Contudo, no trabalho de Lemkau *et al.* (2014), embora seus resultados sejam semelhantes no tocante ao comportamento observado, sua justificativa baseia-se no aumento de compostos oxigenados, fruto de um processo de exposição do óleo ao ambiente. Deste modo, esse aumento da O/C seria fruto de um aumento absoluto e não relativo, como fora justificado acima, onde compostos oxigenado estão sendo gerados e solubilizados no óleo [16].

Os resultados das análises mostrados nas Tabelas 10 e 11 são referentes ao óleo AM-0453. Nessas tabelas é possível observar o decaimento de aproximadamente 2,4% e 9% (*m/m*) no percentual de carbono total para o óleo bruto em contato com o ambiente marinho e fluvial, respectivamente.

Tabela 10 - Análise elementar do óleo bruto AM-0453 em contato com o ambiente marinho.

Tempo (h)	%C	%H	%N	%S*	%O	O/C
0	84,93	11,81	0,77	0,62	2,49	0,022
1	85,01	12,16	0,47	0,62	1,74	0,015
12	84,93	12,21	0,45	0,62	1,79	0,016
24	83,95	12,43	0,54	0,62	2,46	0,022
48	82,31	11,92	0,50	0,62	4,65	0,042
72	82,85	11,80	0,54	0,62	4,19	0,038

*Dados obtidos em trabalho anterior realizado pelo grupo [38].

Diferente do que foi observado para o óleo UOSEAL-01, onde não houve alterações na composição percentual de nitrogênio total para ambos os ambientes de exposição, para o óleo AM-0453 essa diminuição foi de

aproximadamente 30% e 45% (*m/m*) para os ambientes marinho e fluvial, respectivamente, tal depleção de nitrogênio é contrária ao que foi relatado no trabalho de Lemkau *et al.* (2014), onde os autores informaram que nenhuma mudança foi observada ao longo dos 617 dias de exposição do óleo ao ambiente aquoso [16].

Tabela 11 - Análise elementar do óleo bruto AM-0453 em contato com o ambiente fluvial.

Tempo (h)	%C	%H	%N	%S*	%O	O/C
0	84,93	11,81	0,77	0,62	2,49	0,022
1	83,54	12,57	0,47	0,62	2,80	0,025
12	84,14	12,65	0,50	0,62	2,09	0,019
24	81,57	12,26	0,46	0,62	5,09	0,047
48	78,80	12,18	0,41	0,62	7,99	0,076
72	77,37	12,35	0,42	0,62	9,24	0,090

*Dados obtidos em trabalhos anteriores pelo grupo [38].

Assim como foi visualizado no óleo UOSEAL-01, o aumento no teor de oxigenados foi observado para o óleo AM-0453, sendo o acréscimo no percentual de oxigênio total praticamente quadruplicado ao longo das 72 horas de exposição ao ambiente fluvial e quase dobrado no ambiente marinho. Essas mudanças estão totalmente de acordo com o que foi relatado no trabalho de Islam *et al.* (2013), os autores informaram que o aumento foi de quase 4 vezes, assim como foi visualizado no nosso trabalho [56].

4.3 Perfis cromatográficos das frações de saturados

4.3.1 Evolução dos saturados por GC-FID do óleo UOSEAL-01

A partir das análises dos perfis cromatográficos das frações de saturados do óleo UOSEAL-01 obtidas durante o experimento, algumas informações puderam ser extraídas, como uma provável razão pela qual o teor de carbono observado pela análise elementar diminui consideravelmente para o óleo em contato com ambos os ambientes e, também, a diferenciação entre os processos sofridos pelo óleo em cada um desses meios.

A distribuição no número de *n*-alcanos para todas as amostras foi de *n*-C₁₁ a *n*-C₃₅. Deste modo, na análise dos cromatogramas obtidos, foi observada uma preferência na diminuição dos *n*-alcanos de cadeia curta e média, abrangendo entre *n*-C₁₂ a *n*-C₃₀ (Figura 27), para o óleo em contato com o ambiente fluvial e *n*-C₁₂ até *n*-C₂₀ para o ambiente marinho (Figura 28).

A depleção desses hidrocarbonetos corrobora com as análises de CHN onde é visto um decréscimo no teor de carbono de 16% (*m/m*) para ambos os ambientes, deste modo, tal mudança seria, proveniente da diminuição ou completa remoção dessas parafinas.

Figura 27 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente fluvial.

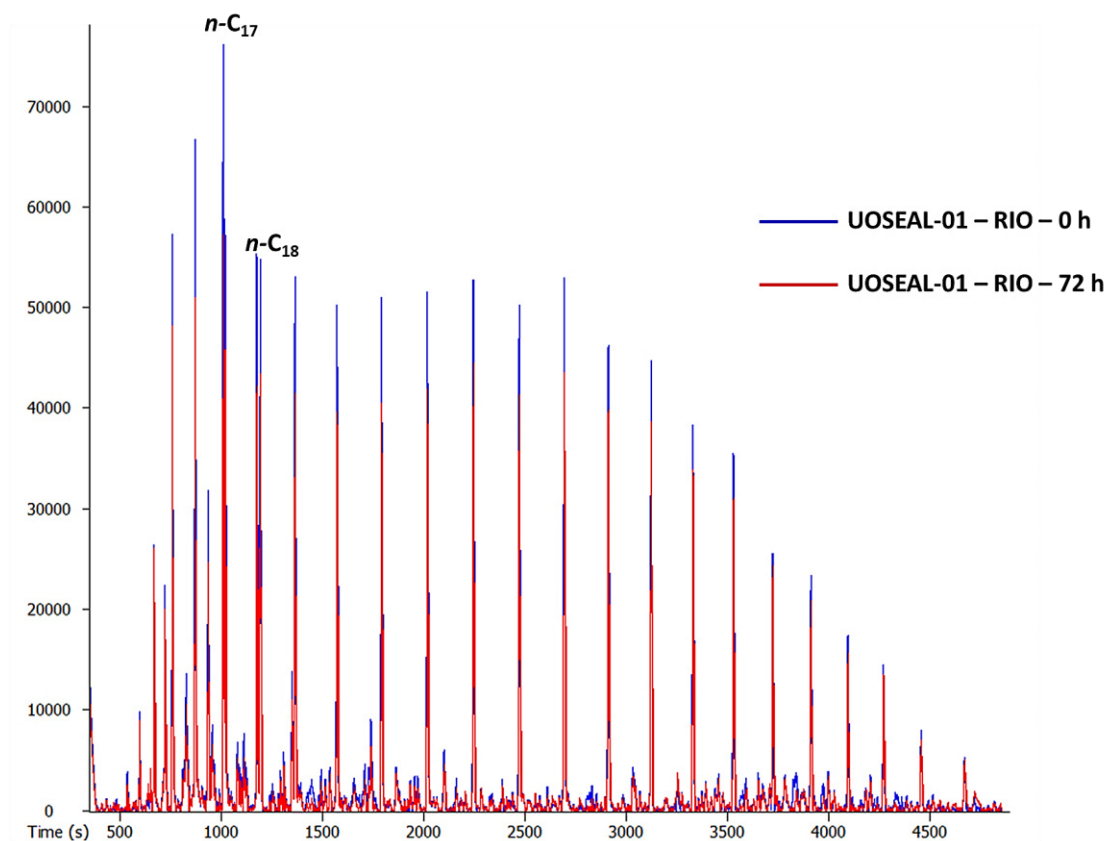
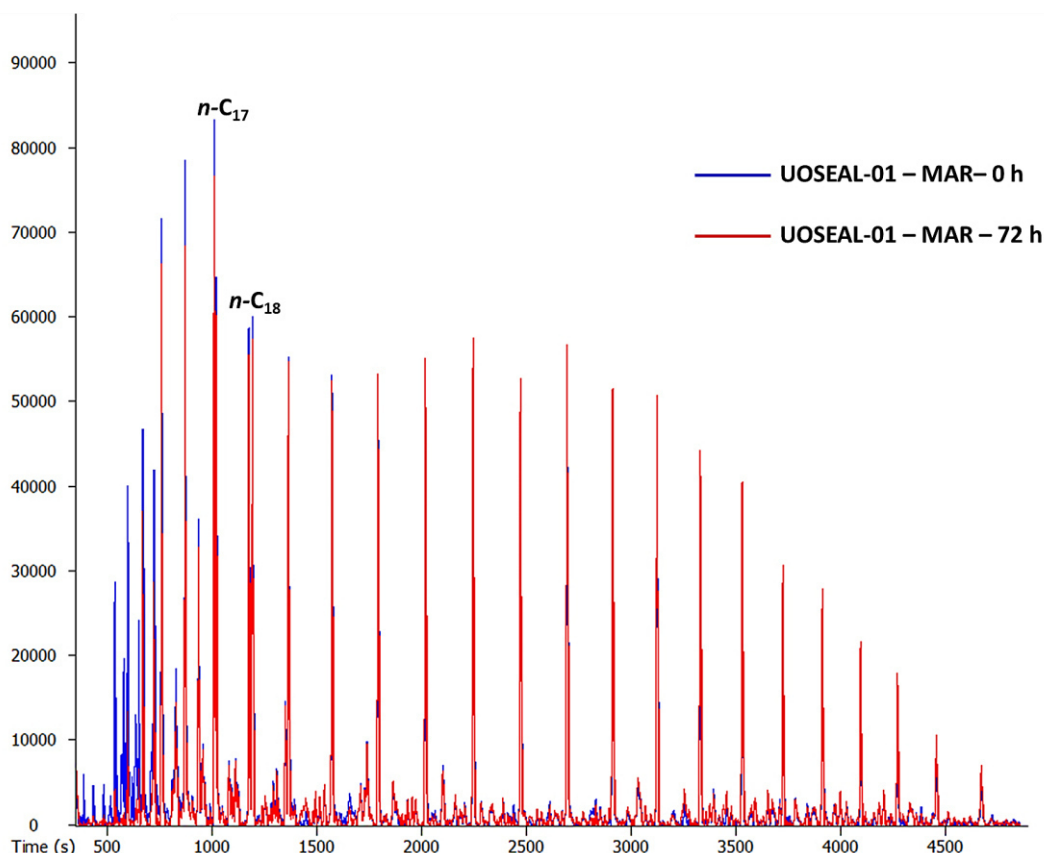


Figura 28 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente marinho.



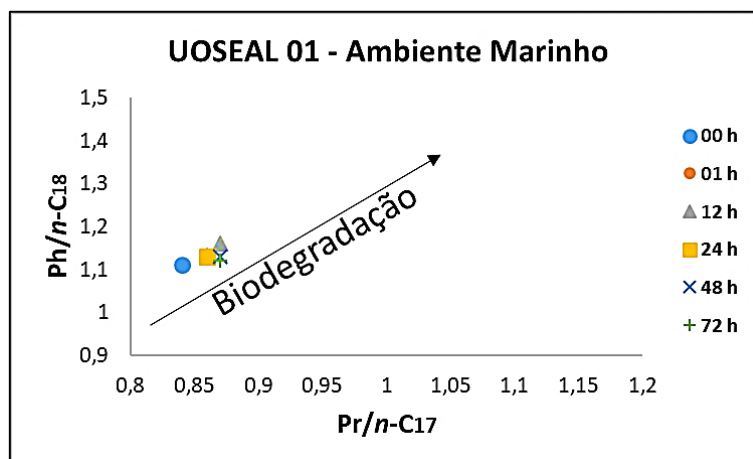
Embora a depleção dos *n*-alcanos de baixa massa molecular possa ser fruto da evaporação ou de um maior coeficiente de partição em água, isso não exclui a possibilidade de outros processos estarem envolvidos. Deste modo, a partir das razões entre o $\text{Ph}/n\text{-C}_{18}$ e $\text{Pr}/n\text{-C}_{17}$ foi possível observar se a biodegradação dessa classe de compostos foi detectada.

Segundo Peters (2005), a razão $\text{Ph}/n\text{-C}_{18}$ vs $\text{Pr}/n\text{-C}_{17}$ tende a aumentar conforme dá-se a biodegradação do óleo, deste modo, plotando-se uma razão pela outra, foi construído um gráfico a fim de investigar se em 72 horas houve, de fato, a biodegradação de alguns compostos parafínicos como fora levantada a hipótese em tópicos anteriores.

Na figura 29 é possível observar que o óleo em contato com o ambiente marinho, teve um leve processo de biodegradação iniciado. Por tanto, a perda de massa referente à remoção de *n*-alcanos pode ser atribuída

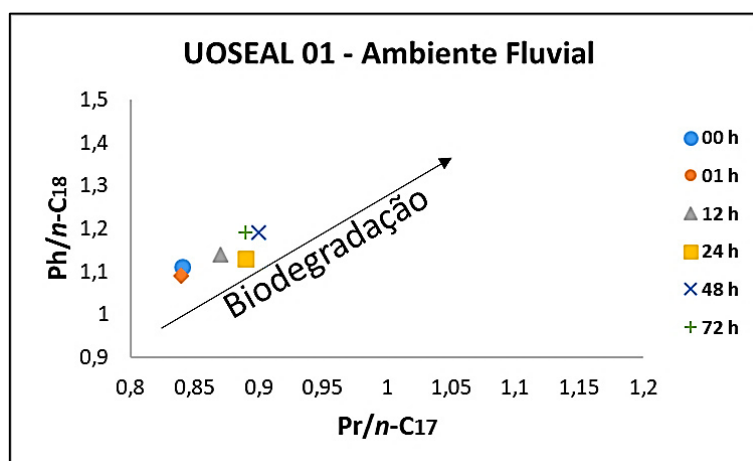
majoritariamente ao processo de evaporação. Não havendo, por tanto, atenuação da ação microbiológica sobre esse óleo.

Figura 29 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do mar.



Contudo, diferente do ambiente marinho, no ambiente fluvial, segundo esse indicativo de biodegradação, a ação microbiológica apresentou um caráter mais sistêmico ao longo das 72 horas, como pode ser observado na figura 30.

Figura 30 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do rio.



Nesse caso, a diminuição mais acentuada observada pelo fracionamento SARA para a fração de saturados pode ser associada a presença de microrganismos, cuja a preferência deu-se por *n*-alcanos de cadeia curta e média, abrangendo de *n*-C₁₂ até *n*-C₃₀, como é relatado no trabalho de Maletic

et al. (2011), onde o autor ressalta que dentre as várias frações que constituem o petróleo, os *n*-alcanos de cadeia média (C_{10} a C_{25}) são os substratos preferencialmente consumidos pelos microorganismos e mais rapidamente degradados, ao contrário dos hidrocarbonetos de cadeias mais curtas, por apresentarem maior toxicidade para essa população [63].

4.3.1 Evolução dos saturados por GC-FID do óleo AM-0453

Com as análises dos perfis cromatográficos das frações de saturados do óleo AM-0453 obtidas ao longo do experimento, algumas informações puderam ser extraídas acerca da diferenciação entre os processos sofridos pelo óleo em cada um desses meios.

O range no número de *n*-alcanos para todas as amostra foi de *n*- C_{11} a *n*- C_{34} . Assim como ocorreu para o óleo UOSEAL-01, na análise dos cromatogramas obtidos, foi observada uma preferência na diminuição dos *n*-alcanos de cadeia curta e média, abrangendo entre *n*- C_{12} a *n*- C_{15} (Figura 31), para o óleo em contato com o ambiente marinho e *n*- C_{12} até *n*- C_{20} para o ambiente fluvial (Figura 32).

Figura 31 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente marinho.

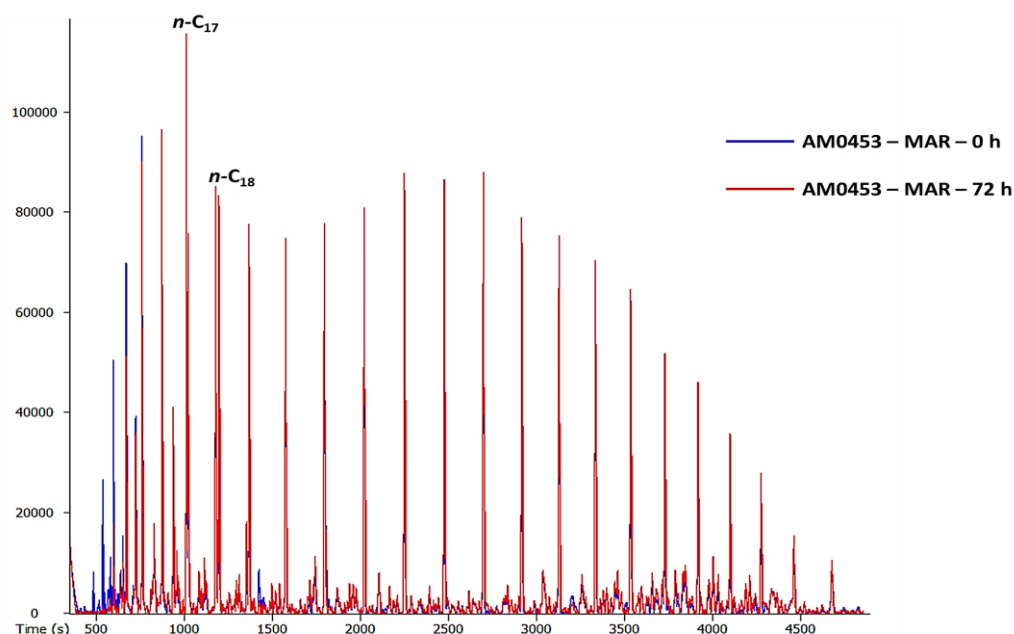
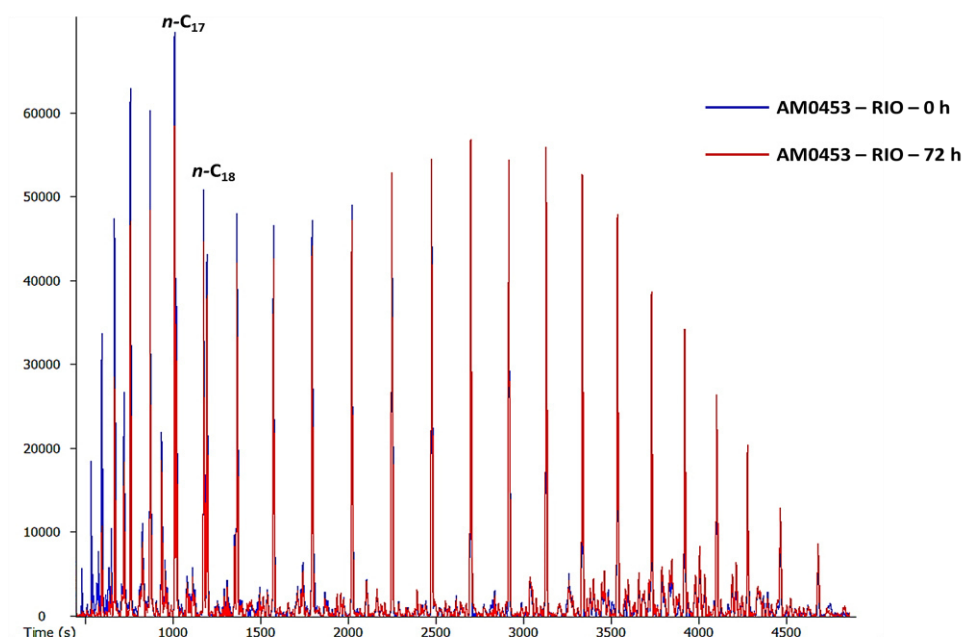
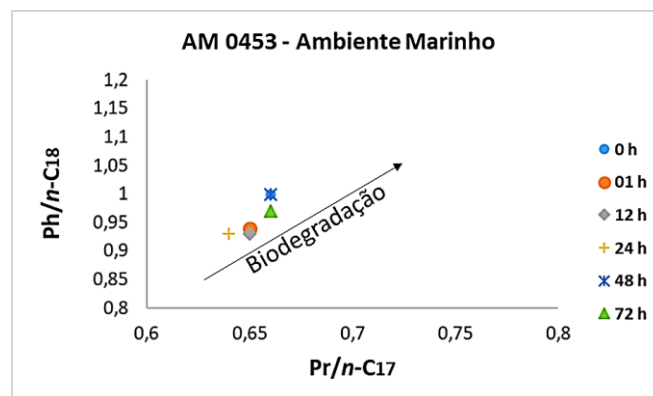


Figura 32 - Comparação entre os perfis cromatográficos das frações de saturados obtidos por GC-FID para o ambiente fluvial.



Da mesma forma que foi realizado por óleo UOSEAL-01, a fim de explicar quais prováveis fenômenos tiveram maior contribuição para o decaimento da fração de saturados no óleo AM-0453, a relação entre as razões $Ph/n-C_{18}$ e $Pr/n-C_{17}$ foi utilizada. Nela é possível observar que o óleo em contato com o ambiente marinho (Figura 33), teve um leve processo de biodegradação iniciado, assim como foi constatado para o óleo UOSEAL-01 em contato com o mesmo ambiente.

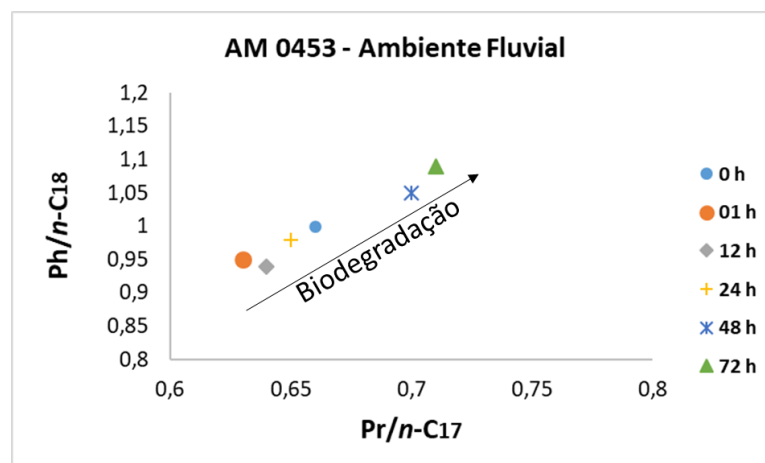
Figura 33 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do mar.



Por tanto, a perda de massa referente à remoção de n -alcanos pode ser atribuída majoritariamente ao processo de evaporação ou maior coeficiente de

partição em água. Não havendo, por tanto, atenuação da ação microbiológica sobre esse óleo. De maneira contrária, ao ambiente marinho, no ambiente fluvial, a ação microbiológica apresentou um caráter mais sistêmico ao longo das 72 horas (Figura 34), bem como o observado para o óleo UOSEAL-01 em contato com o mesmo ambiente.

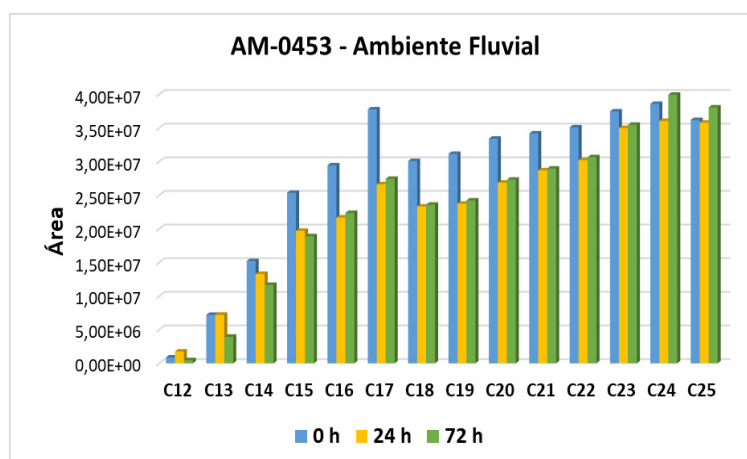
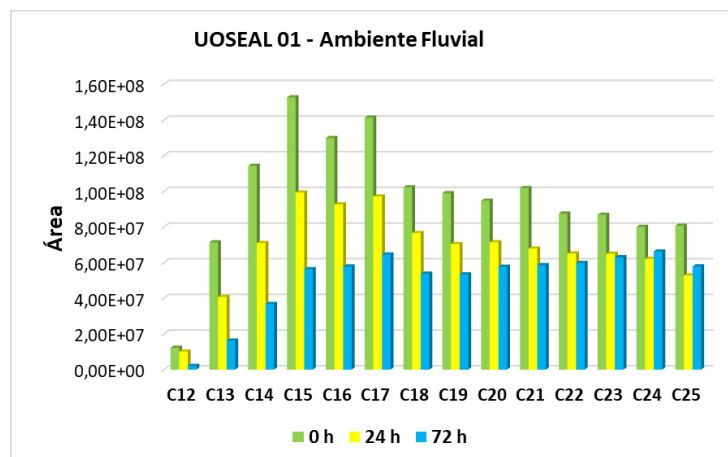
Figura 34 - Evolução da biodegradação do óleo em contato com a água do rio.



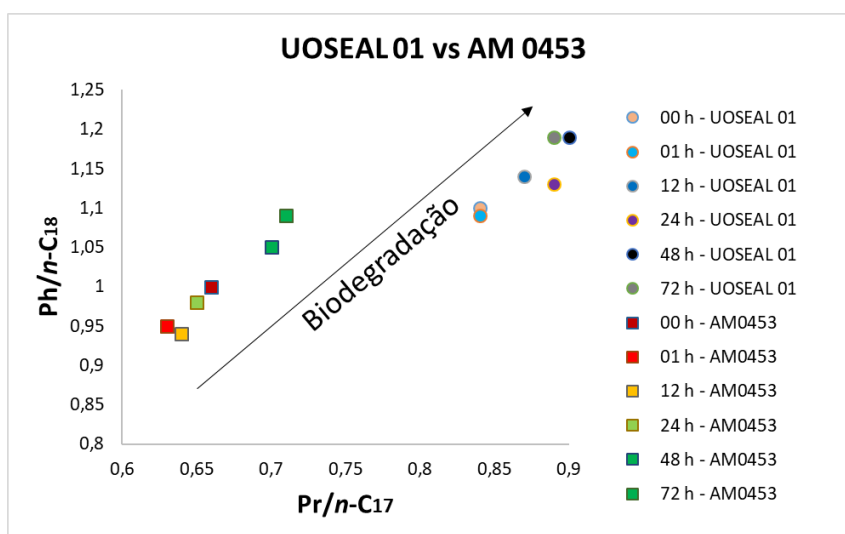
Nesse caso, a diminuição mais acentuada para o ambiente fluvial observada pelo fracionamento SARA para a fração de saturados pode ser associada a presença de microrganismos, cuja a preferência de degradação deu-se por *n*-alcanos de cadeia curta e média, abrangendo de *n*-C₁₂ até *n*-C₂₀, contudo, devido a menor biodisponibilidade destes substratos devido à maior densidade do óleo AM-0453, um decaimento semelhante não foi observado [63].

4.3.2 Comparação entre os óleos para a evolução dos saturados

Avaliando-se os óleos AM-0453 e UOSEAL-01 em contato com o ambiente fluvial, Figuras 35 e 36, respectivamente, observa-se comportamentos similares de degradação, em ambos os óleos as parafinas na faixa de C₁₂ a C₂₅ tiveram suas áreas reduzidas ao longo do processo.

Figura 35 - Evolução da biodegradação dos *n*-alcanos do óleo AM-0453.**Figura 36** - Evolução da biodegradação dos *n*-alcanos do óleo UOSEAL-01.

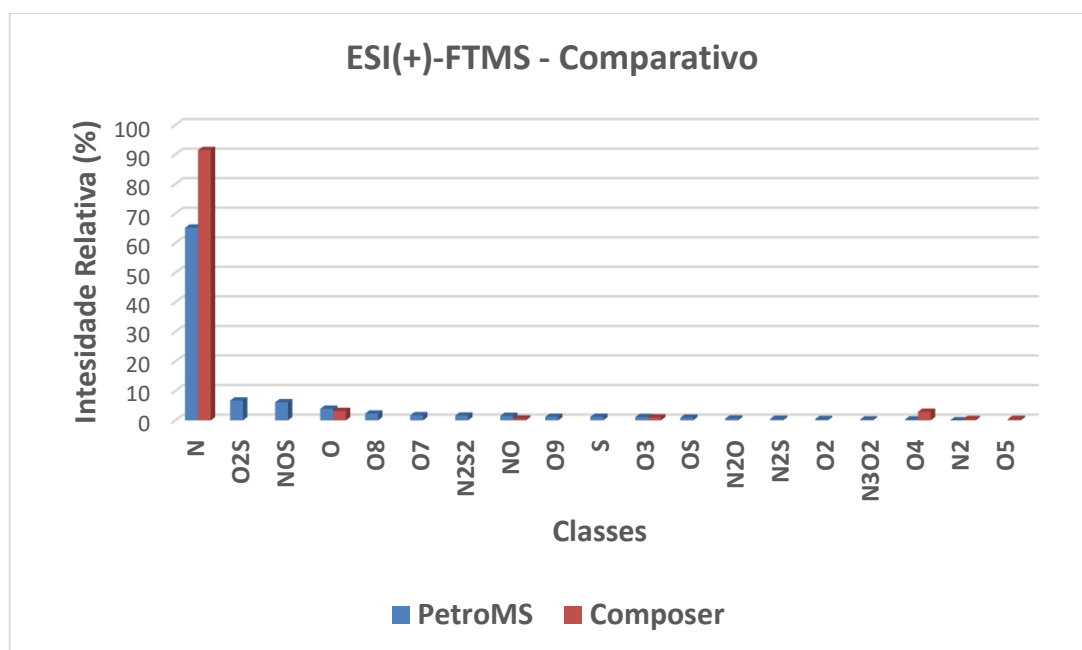
Embora o maior decréscimo acerca dos *n*-alcanos seja observado para o óleo UOSEAL-01, é observado que quando comparadas as relações entre as razões Ph/*n*-C₁₈ e Pr/*n*-C₁₇ para ambos os óleos, a tendência mais sistemática observada é referente ao óleo AM-0453, como é mostrado na Figura 37. Assim, seguindo esse indicativo, um óleo com densidade maior apresenta um comportamento mais sistemático de degradação que um óleo de densidade menor.

Figura 37 - Comparativo entre a biodegradação dos óleos estudados.

4.4 Análise das frações resinóicas dos óleos por ESI(±)-FTMS

Conhecendo as limitações da GC/MS sobre a caracterização da fração polar do petróleo, e afim de expandir o conhecimento sobre as modificações químicas sofridas por esta fração, foram realizadas as análises em todos os tempos estabelecidos (1, 12, 24, 48 e 72 h) para as frações resinóicas de cada óleo, tanto os que foram expostos ao ambiente marinho, quanto aos que foram submetidos ao ambiente fluvial. As análises foram feitas em ambos os modos de aquisição, positivo e negativo, e estes serão discutidos separadamente.

Com a finalidade de avaliar qual software de processamento seria melhor para o tratamento dos dados obtidos pelo FTMS, foram testados dois programas, o PetroMS e o Composer. Utilizando o PetroMS foi observado que a quantidade de classes atribuídas foi maior em comparação as destacadas pelo Composer, como mostra a Figura 38.

Figura 38 - Comparação entre o PetroMS e Composer no modo positivo.

Embora o processamento feito pelo PetroMS tenha atribuído classes contendo enxofre, que não foram atribuídas pelo Composer, essa informação pode ser considerada, visto que outros autores também obtiveram em seus processamentos classes iguais ou semelhantes utilizando a mesma fonte de ionização, corroborando ainda com o percentual de 0,54% (*m/m*) de enxofre que o óleo analisado apresenta em sua análise elementar [64, 65].

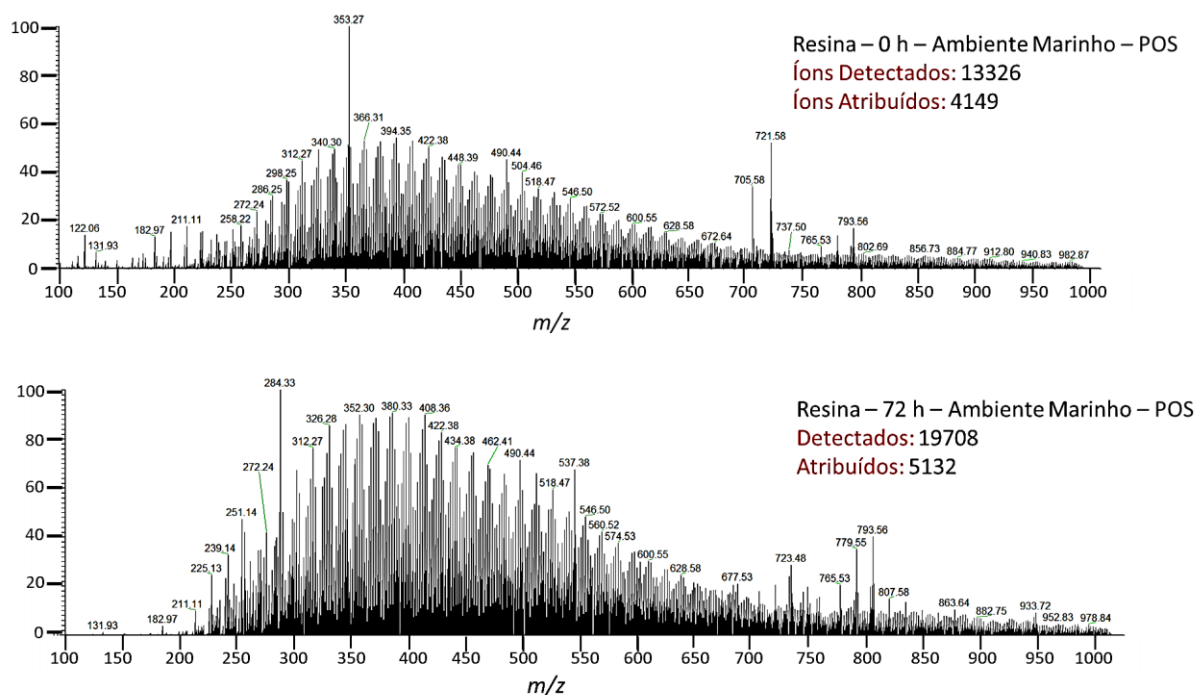
Ademais, devido ao tempo de contato ser curto (menos que 3 dias), foi necessário diminuir o *threshold* do processamento a fim de observar sutis mudanças na composição molecular do óleo ao longo do processo. Assim, todos os processamentos foram efetuados utilizando o software PetroMS e com o *threshold* igual a 0. Os resultados obtidos serão comentados nos tópicos seguintes.

4.4.1 Evolução das resinas do óleo UOSEAL-01 no ambiente marinho pelo ESI(+)-FTMS

Os espectros obtidos pelo ESI(+)-FTMS para as frações resinóicas ao longo do experimento com o óleo em contato com água do mar indicaram que houve um aumento significativo no número de íons detectados e atribuídos. Como mostra a Figura 39, houve um acréscimo de 6382 íons ao total e 983

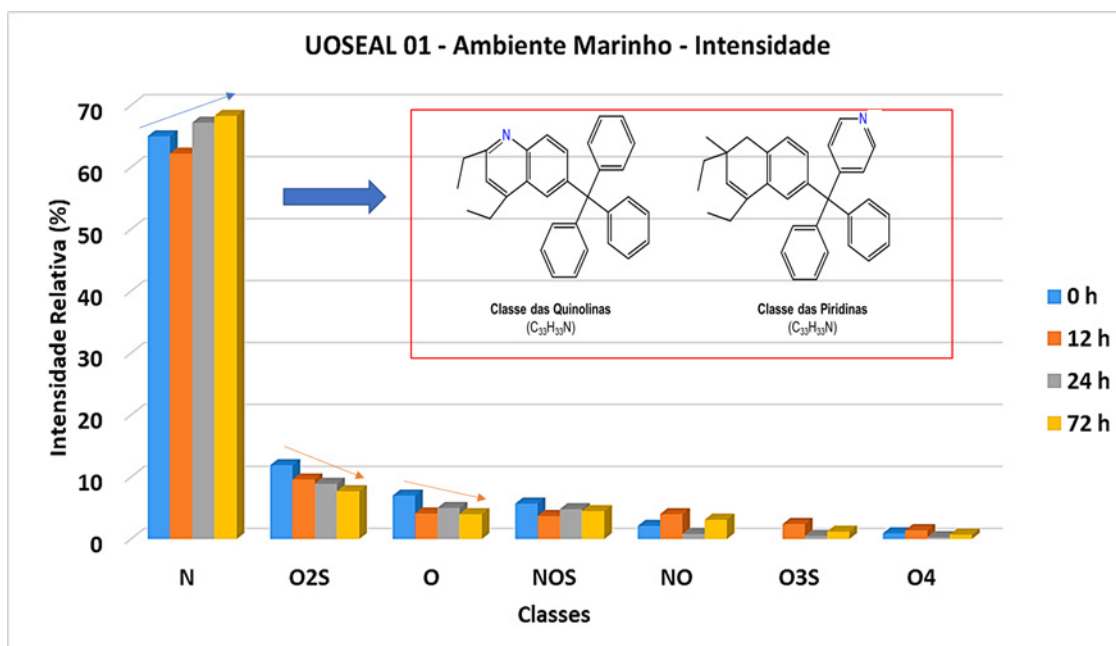
íons atribuídos quando comparado as resinas no óleo bruto com a de simulação à 72 horas. Contudo, embora tenha ocorrido esse aumento na complexidade do espectro, poucas mudanças foram detectadas para as classes majoritárias quando feito os estudos de petroleômica.

Figura 39 - Evolução da fração resinóica por FTMS – Ambiente Marinho.



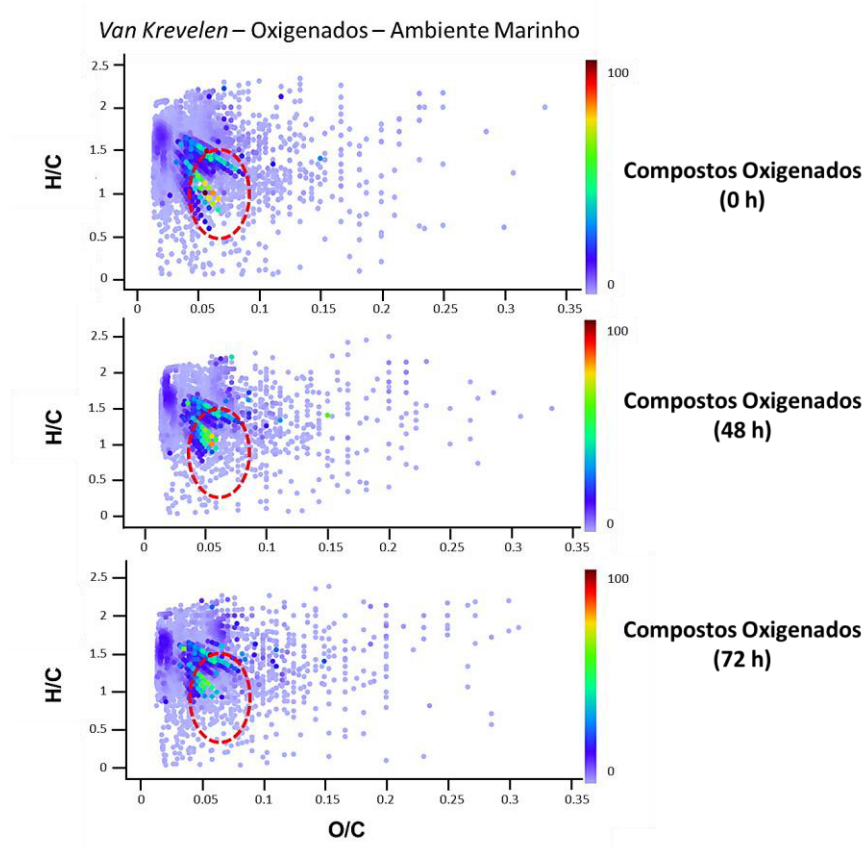
Com base na Figura 40, pode-se observar que, no decorrer das 72 horas após o derrame, as classe majoritária continuaram sendo as classes N_1 , O_2S , O_1 e NOS . A classe majoritária N_1 não apresentou variações significativas em sua intensidade ao longo do processo, tendo apenas um leve aumento após 72 horas de contato com o ambiente marinho. Em contrapartida, as classes O_2S e O_1 sofreram leves reduções na intensidade. Embora na composição da amostra, obtido por CHN, o teor de nitrogenados tenha sido bem menor que o teor de oxigênio, a ionização dessa classe de compostos mostrou-se mais efetiva para a fonte de ionização por ESI.

Figura 4040 - Histograma de classes para o óleo em contato com o ambiente marinho no modo positivo.



De modo contrário ao que era esperado devido aos dados obtidos por CHN, onde a razão O/C aumentou, o mesmo não pode ser observado nos espectros de FTMS no modo positivo. Utilizando os diagramas de *Van Krevelen* de todas as classes de oxigenados, como Huba e Gardinali (2016) fizeram em seu trabalho, a fim de observar o efeito do intemperismo sobre o óleo no tocante a este grupo de compostos, nenhuma mudança significativa pode ser observada, como pode ser visualizado na Figura 41 [1].

Figura 41 - Gráfico de Van Krevelen para todas as classes de oxigenados - Ambiente marinho.



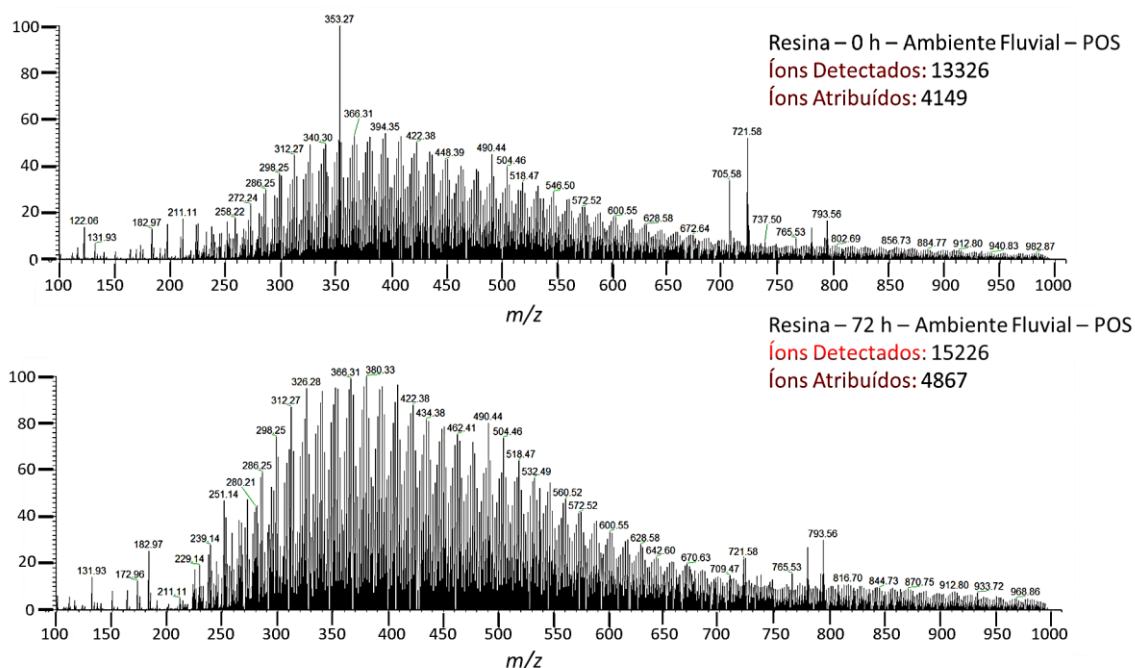
A resultados da fração resinóica por ESI(+)-FTMS mostraram mudanças pouco significativas, mesmo sendo possível que tenha ocorrido alguma mudança nesta fração. Assim, para uma caracterização mais abrangente destas frações que estiveram em contato com a água salina, faz-se necessário o uso de outras fontes de ionização, como Fotoionização à pressão atmosférica (APPI) ou Ionização química à pressão atmosférica (APCI), a fim de vislumbrar outras informações adicionais, incluindo a ionização de classes diferentes destas descritas por ESI.

4.4.2 Evolução das resinas do óleo UOSEAL-01 no ambiente fluvial pelo ESI(+)-FTMS

Os espectros obtidos pelo ESI(+)-FTMS ao longo do experimento com a fração resinóica do óleo em contato com água do rio, assim como no ambiente marinho, indicaram que houve um aumento significativo no número de íons

detectados e atribuídos. Na Figura 42 é possível visualizar que houve um acréscimo de 1900 íons ao total e 718 íons atribuídos. Este aumento na complexidade da fração resinóica, diferente do que ocorreu com o óleo no ambiente marinho, cominou em algumas mudanças ao longo das 72 horas quando investigados por petroleômica.

Figura 42 - Evolução da fração resinóica por FTMS – Ambiente Fluvial.

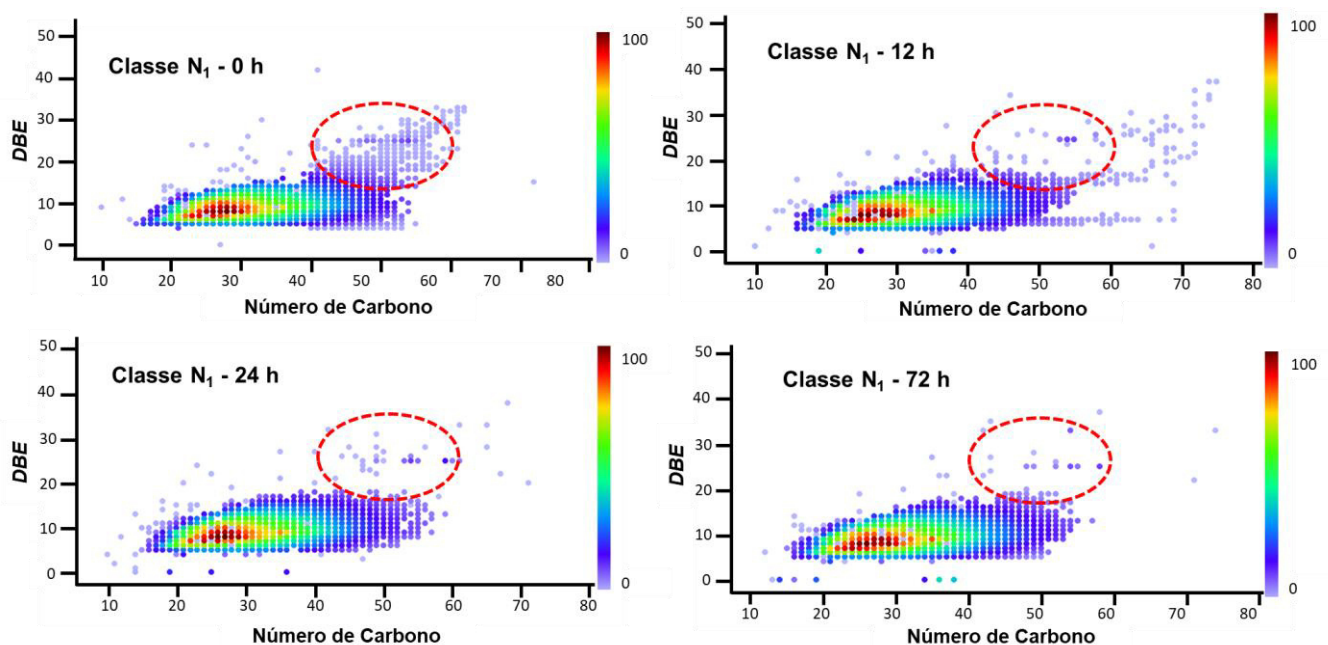


Assim como ocorreu no mar, a classe majoritária presente ao longo das 72 horas, no modo positivo, foi a classe N_1 e esta não sofreu nenhuma mudança significativa em termos de intensidade. Para essa classe, foi encontrada uma intensidade máxima com *DBE* média e número de carbono em 33 ao longo do tempo de contato, o que indica que nenhuma mudança composicional foi sofrida por esta classe.

Contudo, como pode ser observado na Figura 43, nas primeiras 12 horas de contato entre o óleo e o ambiente fluvial, os compostos da classe N_1 com número de carbono entre 40 e 60 e *DBE* entre 20 e 30 diminuem drasticamente. No trabalho de Lemkau *et al.* (2014), ele também observa uma diminuição deste grupo de compostos, resultando numa perda média de 17 átomos de carbono por estrutura, contudo, a *DBE* média não se altera ao longo do tempo. Assim, esta perda é resultante da formação de compostos mais

estáveis e de aromaticidade específica, mediante a remoção de cadeias alquílicas ligadas aos compostos aromáticos contidos nesta classe [16].

Figura 43 - Diagramas de DBE vs Número de Carbono da classe N do óleo UOSEAL-01 – Ambiente fluvial.

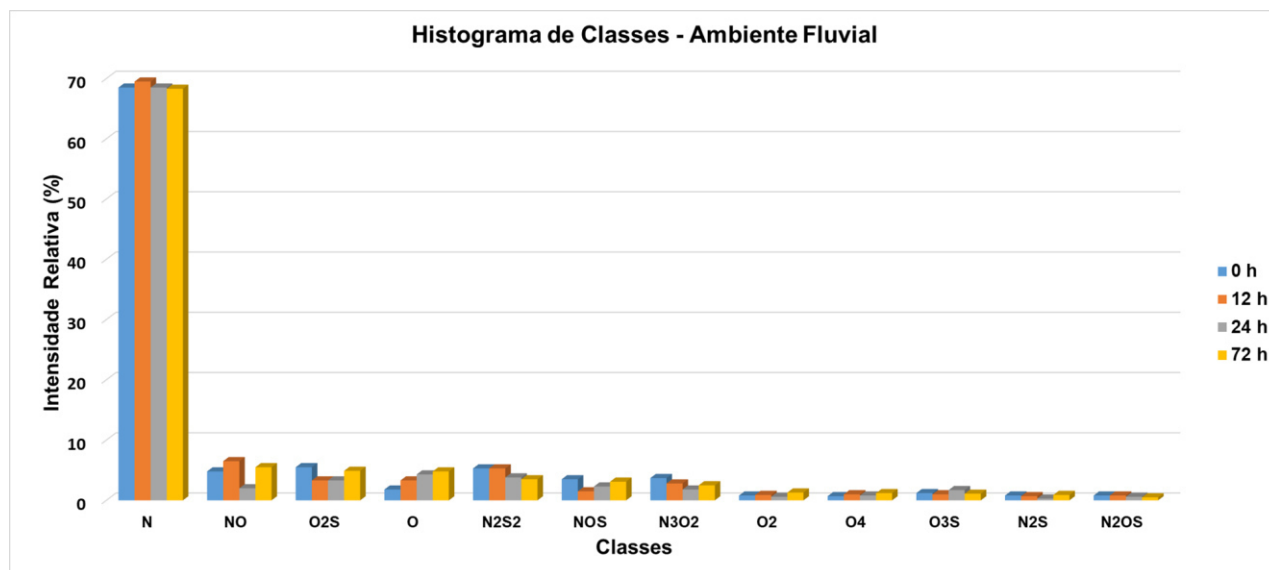


Na Tabela 12, é possível observar as variações no *DBE* médio para as classes majoritárias ao longo das 72 horas e pelo histograma de classes (Figura 44), observa-se que as classes que tiveram maior intensidade relativa foram N₁, NO, O₂S, O e N₂S₂. Dentre estas classes foi possível perceber três tendências, a primeira é o aumento da classe O₁, que é contrário ao que ocorreu para o mesmo óleo em contato com ambiente marinho, a segunda é a diminuição da classe N₂S₂ e a terceira é a diminuição da classe N₃O₂.

Tabela 12 - DBE média das frações resinóicas em ambiente fluvial.

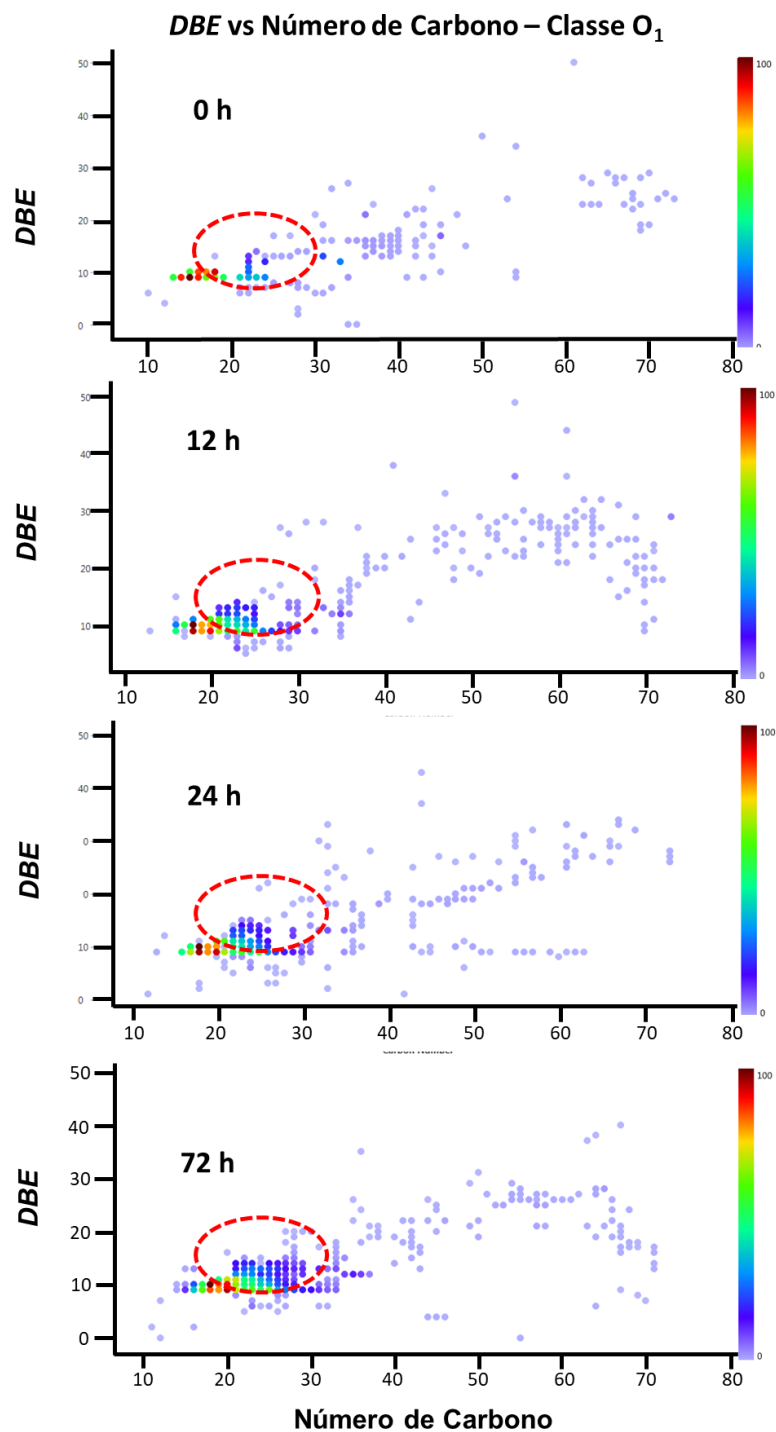
Classe	Tempo (h)			
	0	12	24	72
N	33	33	33	33
O	19	22	22	23
N ₂ S ₂	26	28	27	29
N ₃ O ₂	44	47	49	47

Figura 44 - Histograma de classes para o óleo em contato com o ambiente fluvial no modo positivo.



Dentre as classes majoritárias que sofreram alterações em sua composição a que mais se destacou foi a classe O_1 (Figura 45), corroborando os dados observados pela análise elementar. É visto na literatura que o aumento dessa classe no modo positivo, como citado nos trabalhos de Huba e Gardinali (2016) e Lemkau et al. (2014), é um alerta de degradação do óleo, mediante a oxidação lateral de compostos aromáticos. Essa informação corrobora o aumento observado, uma vez que os compostos acrescidos ao longo das 72 horas de exposição são compostos aromáticos correspondentes a faixa de DBE entre 10 e 15 e número de carbono entre C_{20} e C_{30} .

Figura 45 - DBE vs Número de Carbono para a Classe O₁ para o ambiente fluvial.



É possível ver que à medida que o ambiente fluvial atua sobre o óleo, este vai apresentando estruturas da classe O₁ cada vez mais condensadas, as moléculas com maior intensidade. Tal composição molecular pode ser atribuída

a alguns grupos funcionais que ionizam no modo positivo, como álcoois, cetonas ou fenóis [1].

Uma das hipóteses descrita na literatura sobre o aumento desta classe é que determinado consórcio microbiológico presente no ambiente fluvial atue sobre a fração de aromáticos e mediante um processo de biodegradação aeróbica, inicie a oxigenação dos aromáticos e, conseqüentemente, a formação de produtos mono e di-oxigenados [66]. Outra, é que, diferente do ambiente marinho, o ambiente fluvial favoreça as reações de foto-oxidação na fração de aromáticos e estes seja oxigenados mediante este processo, tal proposição baseia-se na possibilidade haver mais oxigênio dissolvido na água do rio que na água do mar e, por tanto, o mesmo processo não poderia ser visto no ambiente marinho [49, 52].

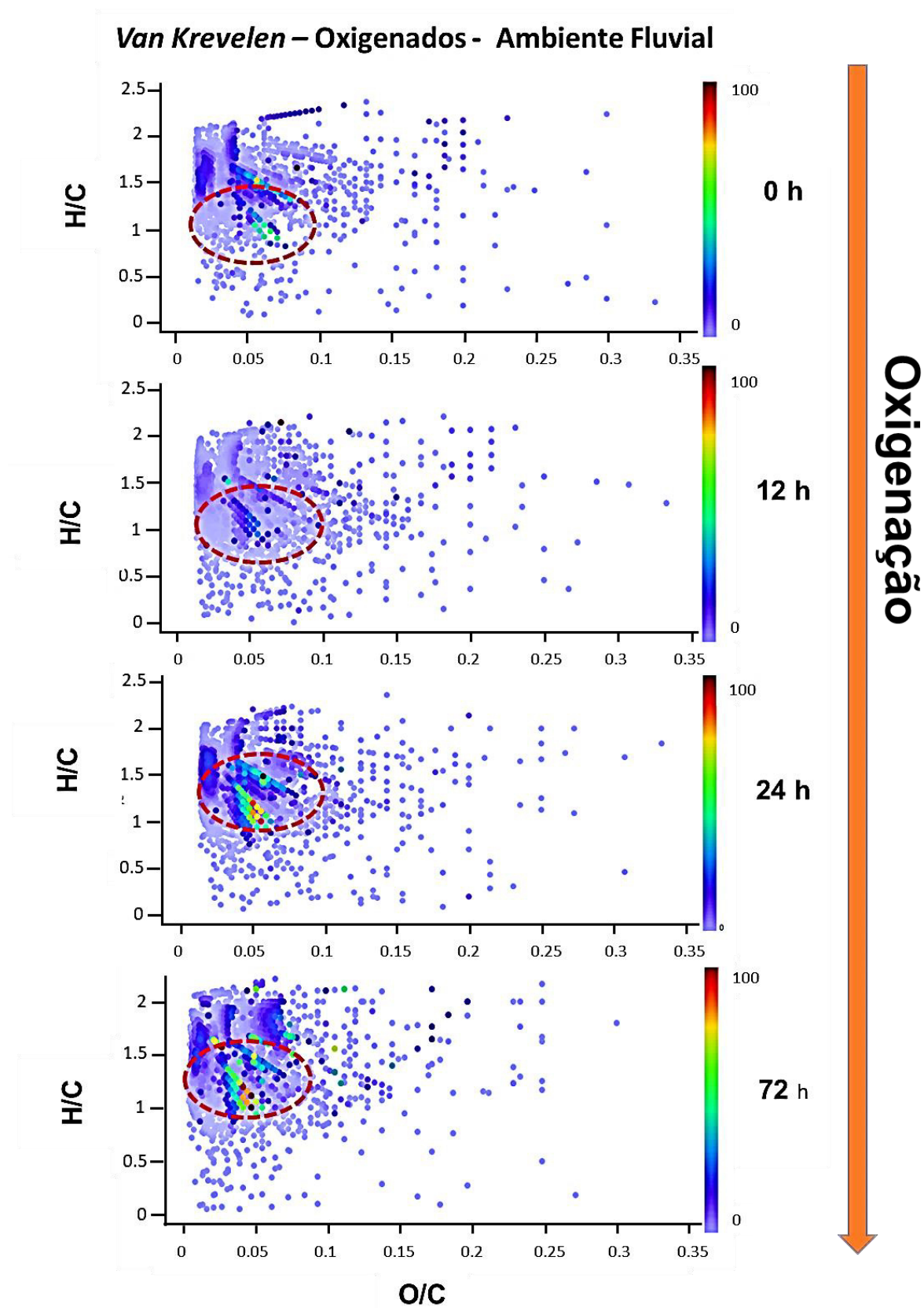
Assim como houve o aumento da classe O_1 ao longo das 72 horas, também foi observado que, neste curto intervalo de tempo, houve, de forma geral, uma oxigenação do óleo. De acordo com Huba e Gardinali, os gráficos de *Van Krevelen* para todas as classes de oxigenados, constitui uma ótima ferramenta para a interpretação das alterações composicionais que ocorrem sobre o óleo.

Ao longo do processo foram detectadas grandes mudanças (mostradas pelos círculos vermelhos) na região de compostos com um H/C na faixa de 0,5 a 1,5, Figura 46. Na literatura, é conhecido que hidrocarbonetos completamente saturados apresentam uma relação H/C de 2, enquanto espécies completamente aromáticas teriam um $H/C < 1$ (com o benzeno começando em 1, e o H/C diminuindo com o aumento do número de anéis, então, o criseno, por exemplo, apresenta um H/C de cerca de 0,67)[1].

Por tanto, a natureza dos compostos cujos íons detectados apresentaram incremento em sua intensidade relativa é aromática. O mesmo comportamento foi observado no trabalho dos autores supracitados, nele é relatado que a oxigenação do óleo é fruto dos processos de intemperismo que ocorrem sobre o mesmo.

Embora, para o óleo em contato com os ambientes fluvial e marinho, algumas modificações possam ser vistas utilizando o ESI(+) como fonte de ionização, ainda faz-se necessário como perspectiva de complementar o estudo, o uso do ESI(-).

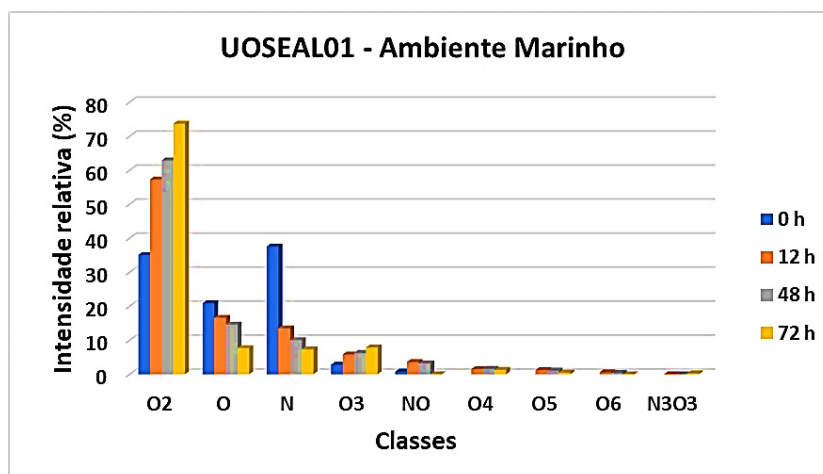
Figura 46 - Gráfico de Van Krevelen para todas as classes de oxigenados - Ambiente fluvial.



4.4.3. Análise das resinas do óleo UOSEAL-01 por ESI(-)-FTMS

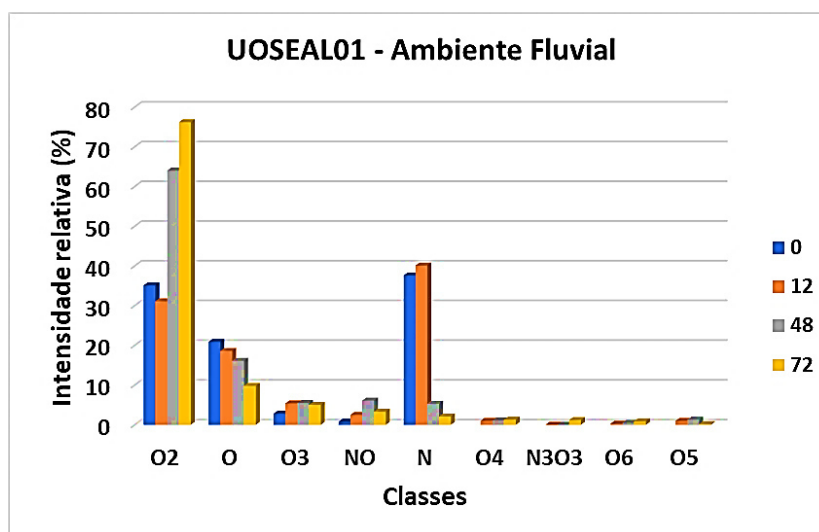
Os espectros obtidos pelo ESI(-)-FTMS, ao longo do experimento com a fração resinóica do óleo UOSEAL-01 em contato as águas do rio e do mar, corroboram com o que fora observado pelos dados obtidos por CHN, onde é visualizado um acréscimo na razão O/C ao passo que a interação do óleo com os ambientes aumenta. Assim, é possível afirmar que, independente do meio, o óleo sofre claramente processos oxidativos. Isso é melhor visualizado nos histogramas de classes das Figuras 47 e 48.

Figura 47 - Histograma de classes para o óleo UOSEAL-01 em contato com o ambiente marinho no modo negativo.



Na Figura 48 é possível visualizar as classes majoritárias para o ambiente marinho, bem como as mudanças que elas sofreram ao longo do experimento. Dentre as classes majoritárias, é observado que O₂ e O₃ - aumentam ao longo do processo de exposição do óleo ao ambiente aquático, ao passo que as classe O₁ e N₁ diminuem. Essa variação é coerente com os trabalhos observados na literaturas, como os trabalhos de Lemkau *et al.* (2014), onde os autores relatam que a intensidade relativa para a classe O₂ mais que dobrou, ao passo que a classe N₁ decresceu consideravelmente.

Figura 48 - Histograma de classes para o óleo UOSEAL-01 em contato com o ambiente fluvial no modo negativo.



A fim de investigar a nível molecular o que aconteceu com essas classes, foram construídos os gráficos de *DBE* vs número de carbono para as supracitadas classes O₂ e N₁. Nas Figura 49 e 50, ambiente fluvial e marinho, respectivamente, é observada uma preservação de um grupo específico de compostos da classe N₁ na faixa correspondente a *DBE* = 12 e 15, essa faixa é referente a compostos do tipo benzocarbazóis e di-benzocarbazóis, respectivamente. Segundo Stout e Wang (2016) esses tipos de nitrogenados são compostos do tipo recalcitrantes, e, por tanto, apresentam maior resistência à biodegradação, principalmente quando comparados à compostos similares, como carabazóis que possuem maior biodegradabilidade [67].

Figura 49 - Evolução da classe N1 por ESI(-)-FTMS para o ambiente fluvial.

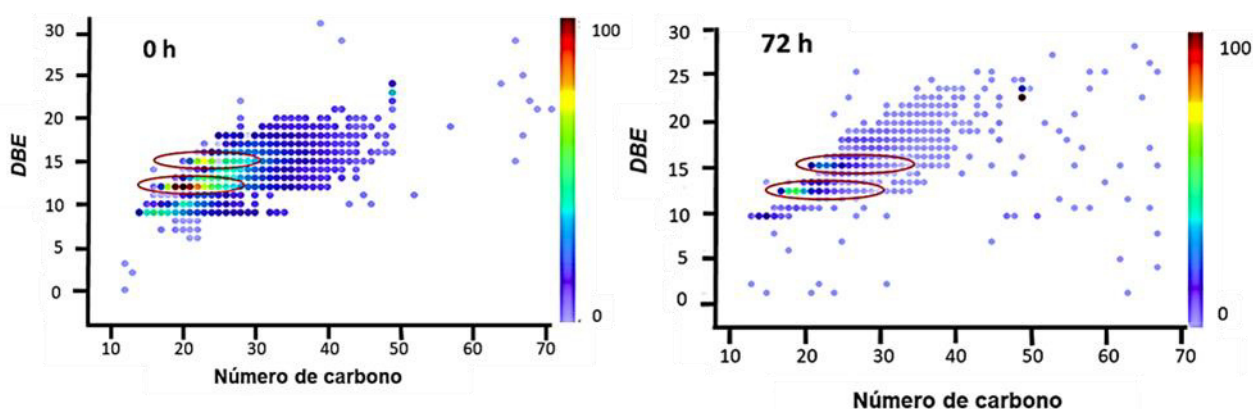
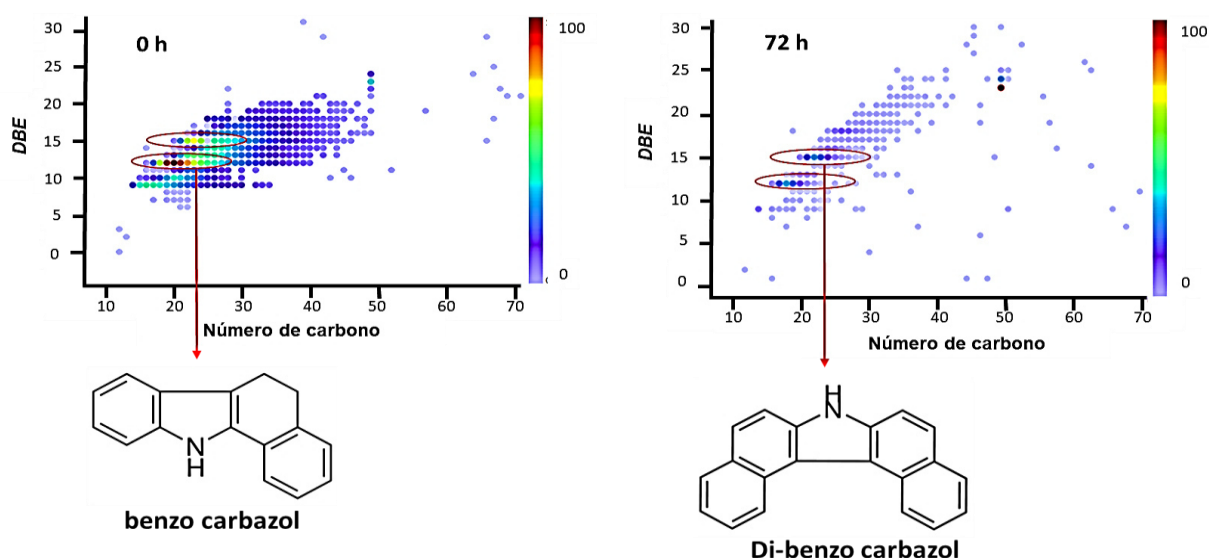


Figura 50 - Evolução da classe N₁ por ESI(-)-FTMS para o ambiente marinho.



Para a classe O₂, mostrada nas Figuras 51 e 52, é observado um aumento no número de ácidos naftênicos entre as $DBE = 8$ e 12. Essa faixa de deficiência de hidrogênio é referente à ácidos naftênicos constituídos de 5 ou mais anéis condensados em sua composição [67]. Segundo Lemkau *et al.* (2014) a tendência observada para o aumento da classe O₂ é consistente com a oxidação natural das classes de álcoois e aldeídos na formação de ácidos carboxílicos. Tendo em vista que, no diagrama de classes apresentado acima (Figuras 47 e 48), a classe O₁ diminuiu à medida que a O₂ aumentou e sabendo-se que, no modo negativo, os compostos do tipo ácido carboxílico são mais facilmente ionizáveis por desprotonação, a hipótese destes compostos presentes na classe O₁ sofrerem processos oxidativos é bastante consistente [1,49].

Figura 51 - Evolução da classe O₂ por ESI(-)-FTMS para o ambiente marinho.

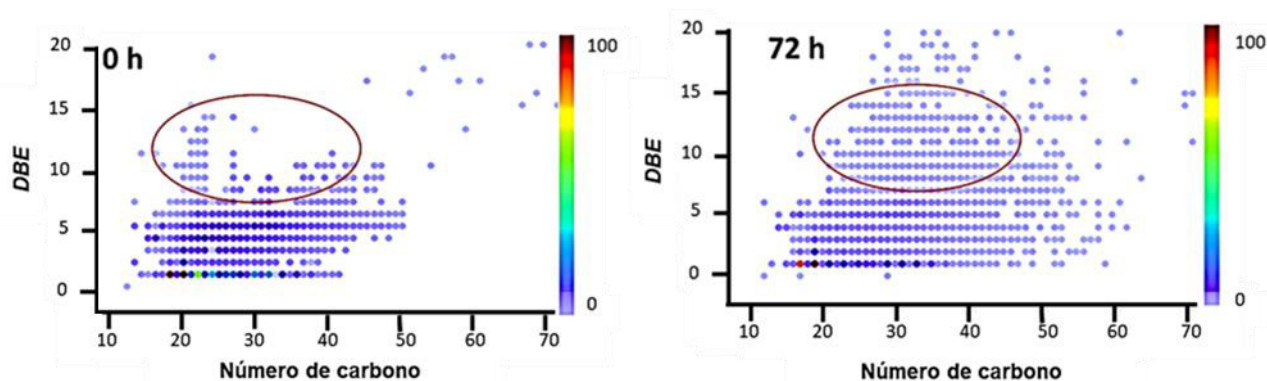
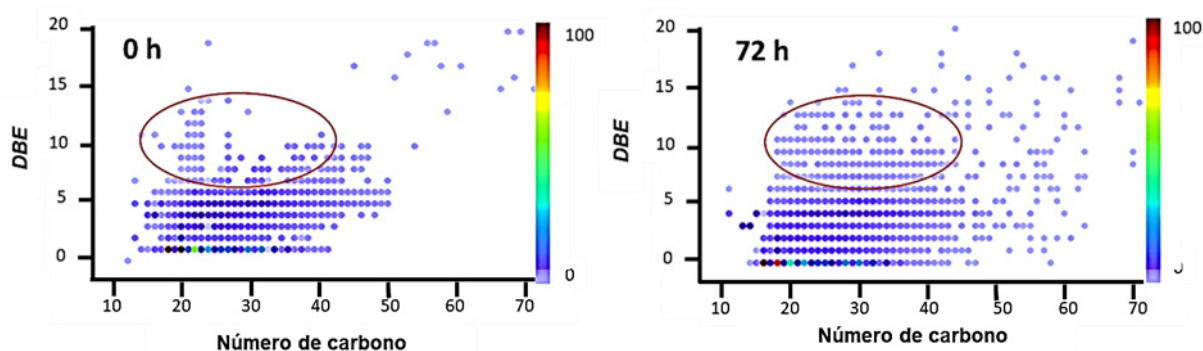


Figura 52 - Evolução da classe O₂ por ESI(-)-FTMS para o ambiente fluvial.



4.5 Análise das frações resinóicas do óleo AM-0543 por ESI(±)-FTMS

4.5.1 Evolução das resinas do óleo AM-0453 por ESI(+)-FTMS

Os espectros obtidos pelo ESI(+)-FTMS ao longo do experimento com a fração resinóica do óleo em contato com água do mar e do rio indicaram que o óleo sofreu modificações consideráveis. De acordo com os histogramas de classes no modo positivo para os ambientes marinho e fluvial, mostrados na Figura 53 e 54, respectivamente, é notável diversas mudanças nas classes majoritárias. Nesses histogramas é possível observar que as classes O₃ e OS aumentam, ao passo que a classe N₁, majoritária para ambos o ambiente, sofreu um decaimento de quase a metade, aproximadamente 40% para ambos os casos. Esse dado é importante, pois mostra coerência com que fora obtido

para pela análise elementar do óleo AM-0453, onde é observado um decréscimo de 30% e 45% para o óleo exposto aos ambiente salgado e doce, respectivamente. Outro ponto importante a ser observado é a diferença entre o comportamento para a classe N_1 entre os óleos AM-0453 e UOSEAL-01, caracterizados por duas técnicas diferentes (CHN e FTMS), pois, enquanto que para o primeiro foi observada uma redução significativa dessa classe, para o segundo, o mesmo não pode ser detectado.

Figura 53 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente marinho modo positivo.

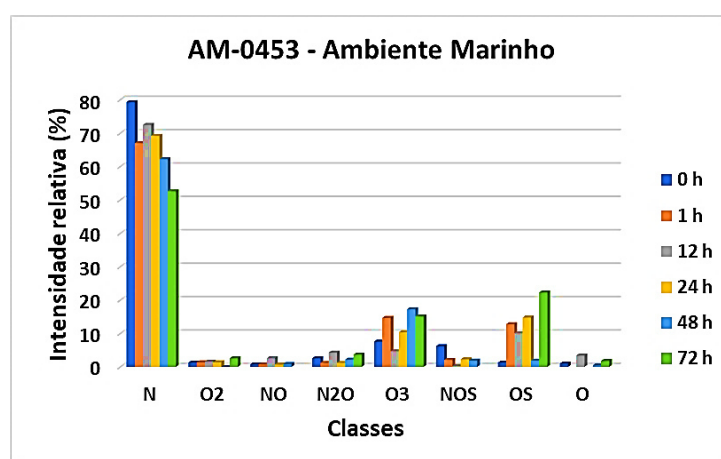
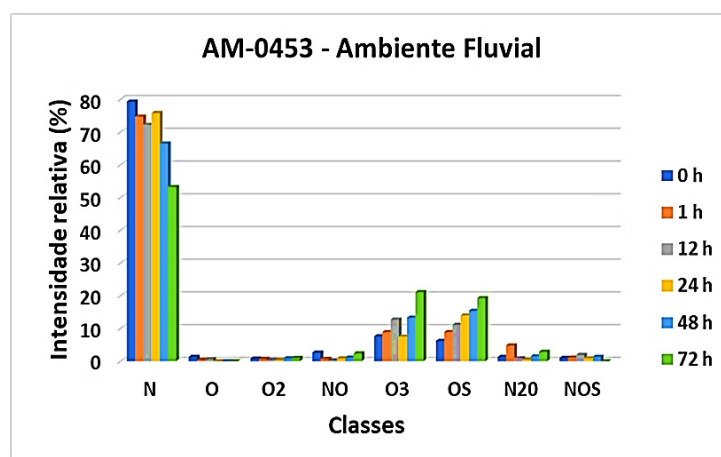


Figura 54 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente fluvial no modo positivo.



Avaliando-se a nível molecular as variações observadas para a classe N_1 nos dois ambientes de exposição, é observado um comportamento inicial diferente para o óleo em cada ambiente. De acordo com os diagramas de *DBE* vs Número de carbono construído para a classe supracitada, a diminuição na intensidade dos compostos entre C_{20} e C_{40} e *DBE* entre 5 e 18 é detectada já na primeira hora de exposição ao ambiente fluvial, como mostra a Figura 55. Um decaimento semelhante é observado para o óleo exposto ao ambiente marinho apenas 12 horas depois (Figura 56). Isso indica que o mesmo grupo de compostos tem maior remoção quando em contato com o ambiente doce em comparação com o salgado.

De modo geral, para ambos os ambientes de exposição, o óleo AM-0453 que apresenta, inicialmente, uma faixa de número de carbono entre C_{20} a C_{70} e *DBE* entre 5 e 30, sofre uma redução dessas faixas para C_{20} a C_{40} em número de carbono e 5 a 15 para *DBE*, ou seja, compostos com número de carbono maior que C_{40} e *DBE* > 15 foram removidos desta fração ao longo do processo (72 horas de exposição). Isso indica que os compostos presentes na classe N_1 para o óleo AM-0453, independente do meio à que estejam expostos, sofreram uma redução na intensidade relativa semelhante ao final do processo, mesmo tendo comportamentos iniciais distintos.

Segundo Islam *et al.* (2013) há uma correlação positiva entre o decréscimo na intensidade relativa da classe N_1 com a ação que o ambiente tem sobre o óleo, nesse trabalho foram comparados um óleo naturalmente estressado pelo ambiente com um óleo artificialmente estressado por foto-oxidação, onde os autores concluíram que a foto-oxidação é um importante processo para a remoção da classe N_1 , contudo a elucidação dos mecanismos pelos quais esse fenômeno ocorre ainda não são bem esclarecidos. Nesse sentido, é possível que o óleo AM-0453 tenha compostos da classe N_1 que sejam mais susceptíveis a foto-oxidação que os compostos da classe N_1 presentes no óleo UOSEAL-01, uma vez que, dadas as mesmas condições experimentais e ambientais, o mesmo não sofreu redução desta classe no modo positivo.

Comparando os óleos iniciais, UOSEAL-01 e AM-0453, é observado que no primeiro não há compostos detectados maiores que C_{50} , enquanto que no segundo esse compostos estão presentes. Utilizando o trabalho de Islam *et al.*

(2013) como parâmetro de comparação, é observado que grupo de compostos removidos após o processo de foto-oxidação é o mesmo que fora observado para o óleo UOSEAL-01. Assim, pode-se inferir que classe a classe de nitrogênio básico (N_1), constituída de cadeias carbônicas maiores que C_{50} e *DBE* maior que 15 é, provavelmente, mais susceptível à processos foto-oxidativos. E, também por essa razão, que a redução de compostos nitrogenados detectada pela análise elementar para o óleo AM-0453 é observada.

Figura 55 - Evolução da classe N₁ do óleo AM-0453 no ambiente fluvial por ESI(+)-FTMS.

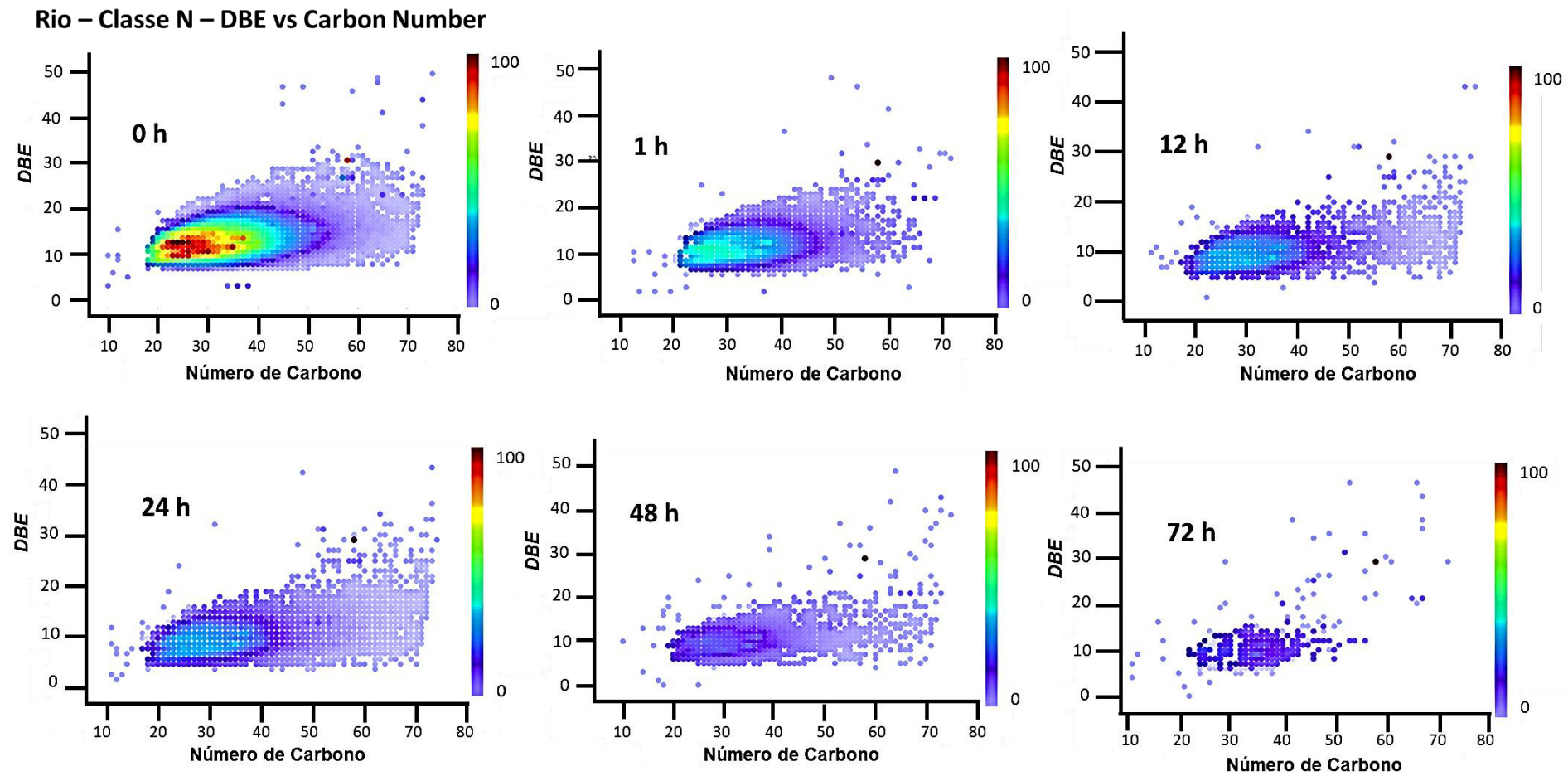
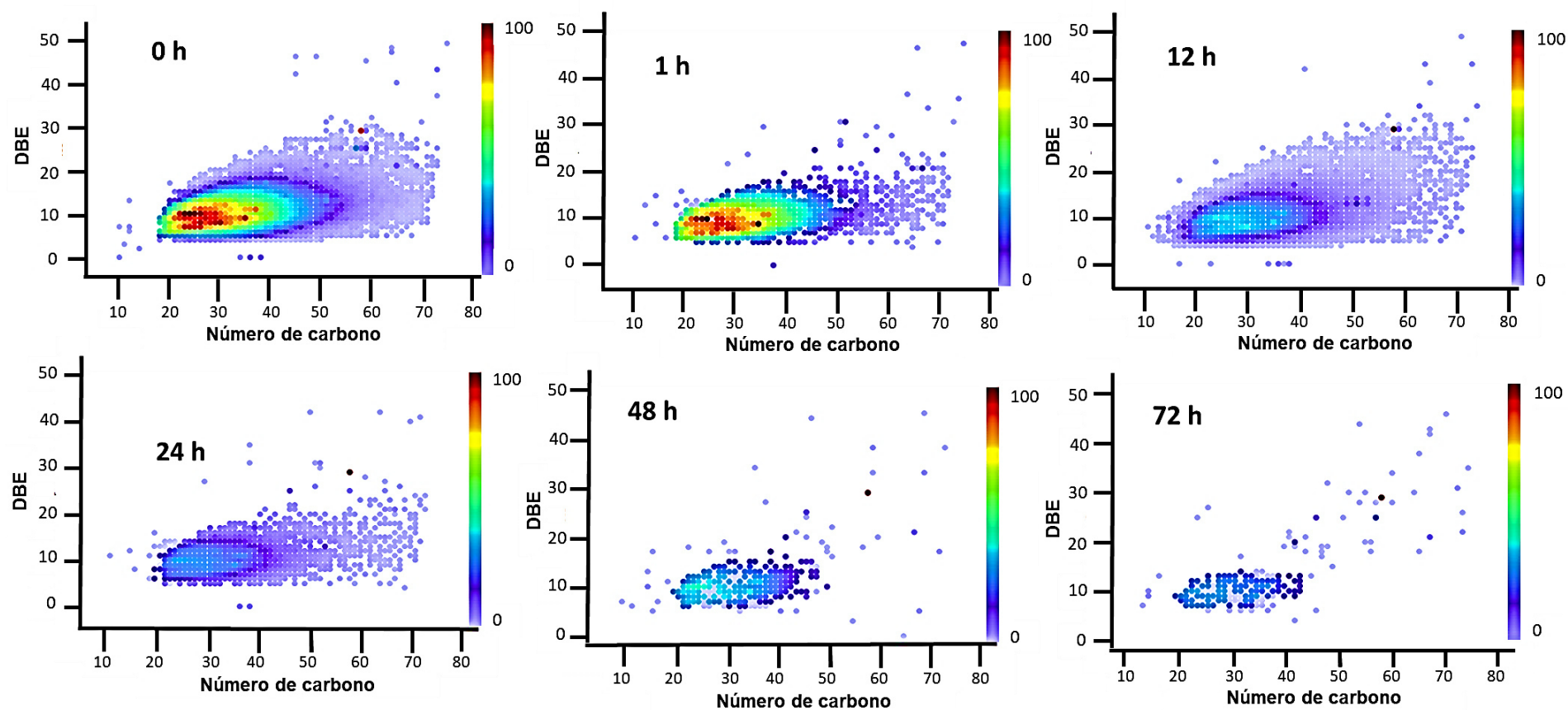


Figura 56 - Evolução da classe N₁ do óleo AM-0453 no ambiente marinho por ESI(+)-FTMS.

Mar – Classe N – DBE vs Carbon Number



4.5.2 Evolução das resinas do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS

De modo semelhante ao que foi observado para a amostra UOSEAL-01, os espectros obtidos pelo ESI(-)-FTMS, ao longo do processo sobre o óleo AM-053 em contato as águas do rio e do mar, corroboram o que fora observado pelos dados obtidos por CHN, onde é visualizado um acréscimo na razão O/C ao passo que a interação do petróleo com os ambientes aumenta. Assim, é possível afirmar que, independente do meio ou do óleo, os processos oxidativos ocorrem sobre mesmo.

Nos histogramas de classes (Figuras 57 e 58) é possível ver uma tendência semelhante ao que aconteceu para o óleo UOSEAL-01, as classes N_1 e O_1 tiveram suas intensidade relativas decaídas, enquanto que a classe O_2 sofreu um acréscimo duas vezes maior. Embora, em ambos os casos, sejam observadas diminuições nas classes N_1 e O_1 , para o ambiente fluvial o óleo AM-0453 sofre maior impacto, principalmente para a classe N_1 que é quase removida em 72 horas.

Figura 57 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente marinho no modo negativo.

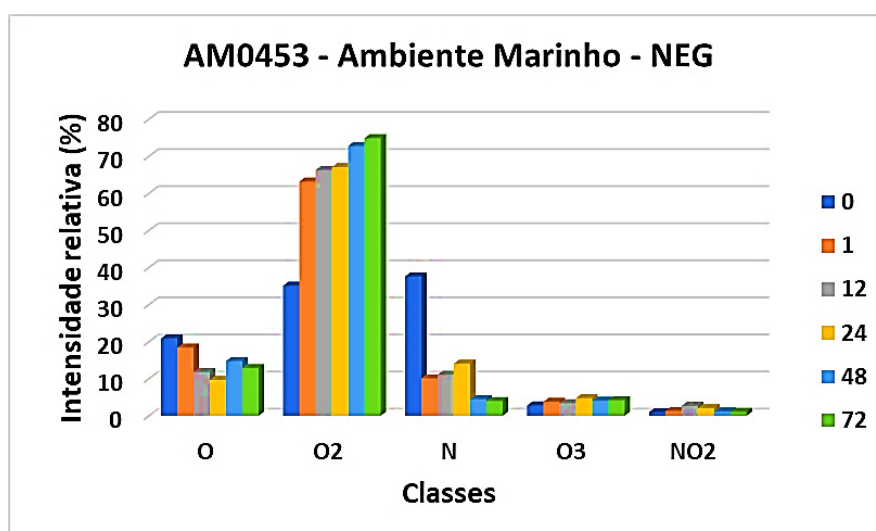
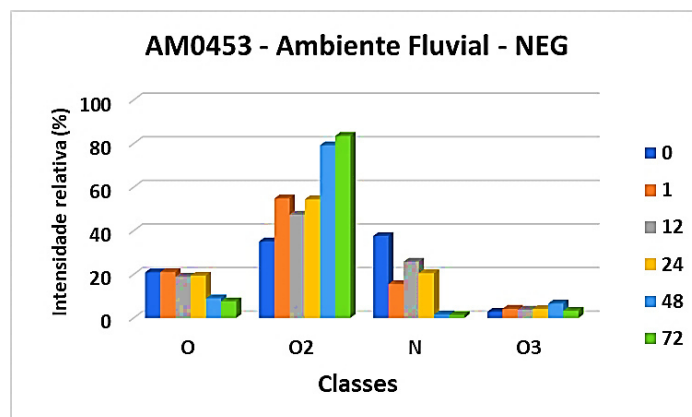
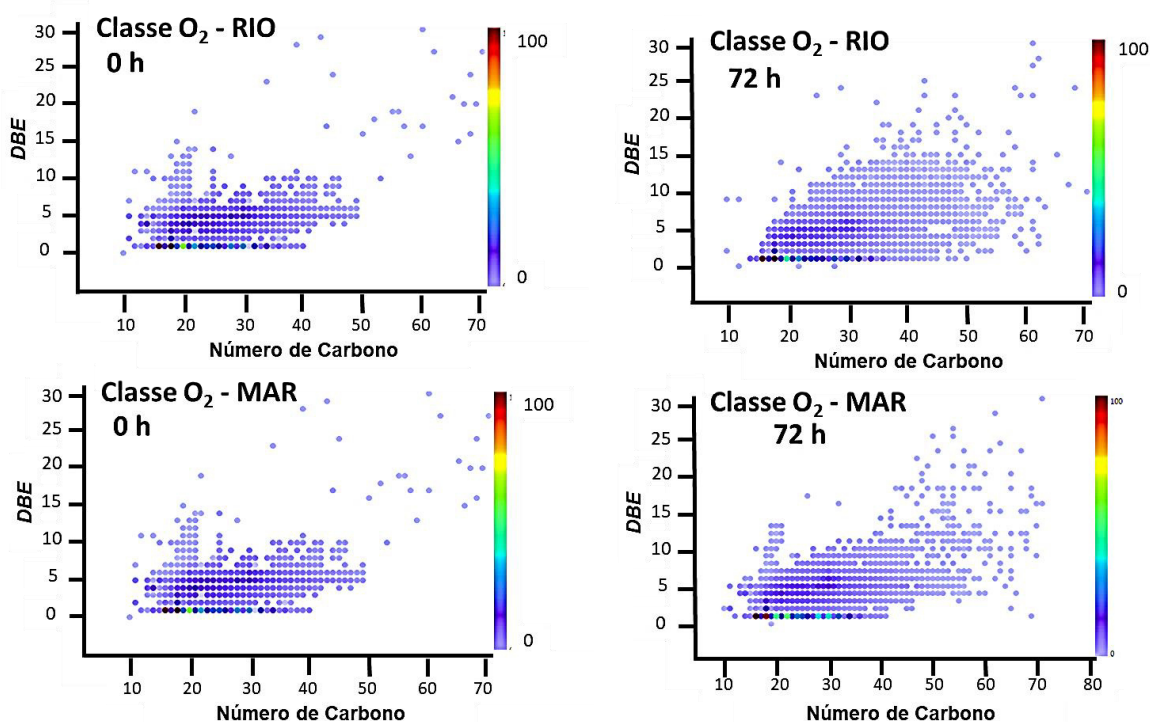


Figura 58 - Histograma de classes para o óleo AM-0453 em contato com o ambiente fluvial no modo negativo.



O comportamento a nível molecular observado para as classes majoritárias presentes na fração resinóica do óleo AM-0453 ao longo do experimento foi bastante semelhante ao que ocorreu com a fração resinóica do óleo UOSEAL-01. A classe O₂ apresentou o mesmo comportamento que o observado para o óleo UOSEAL-01, como mostra a Figura 59, indicando que, independente na natureza do óleo, esse grupo exibe resposta imediata à estresse ambiental.

Figura 59 - Evolução da classe O₂ do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS para os ambientes fluvial e marinho.



Diferentemente do óleo UOSEAL-01 em que a classe N_1 , apesar de ter decrescido ao longo das 72 horas, manteve-se levemente alterada na faixa de DBE entre 12 e 15, para o óleo AM-0453 praticamente nenhum composto restou para essa classe ao final das 72 horas. Para o ambiente fluvial a remoção afetou, inclusive, compostos recalcitrantes como os benzocarbazóis e di-benzo carbazóis, como mostra a Figura 60. Já para o ambiente marinho, essa classe de compostos permaneceu (Figura 61).

Figura 60 - Evolução da classe N_1 do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS para o ambiente fluvial.

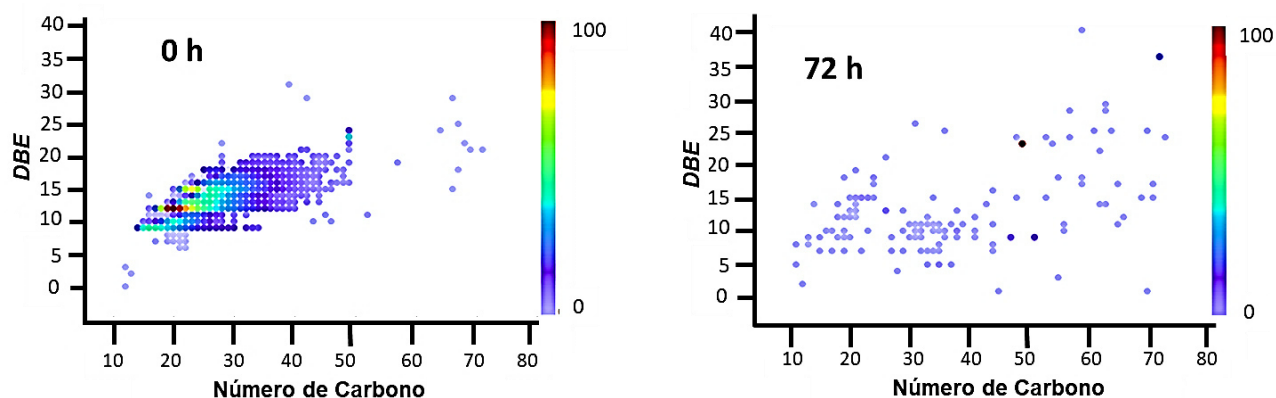
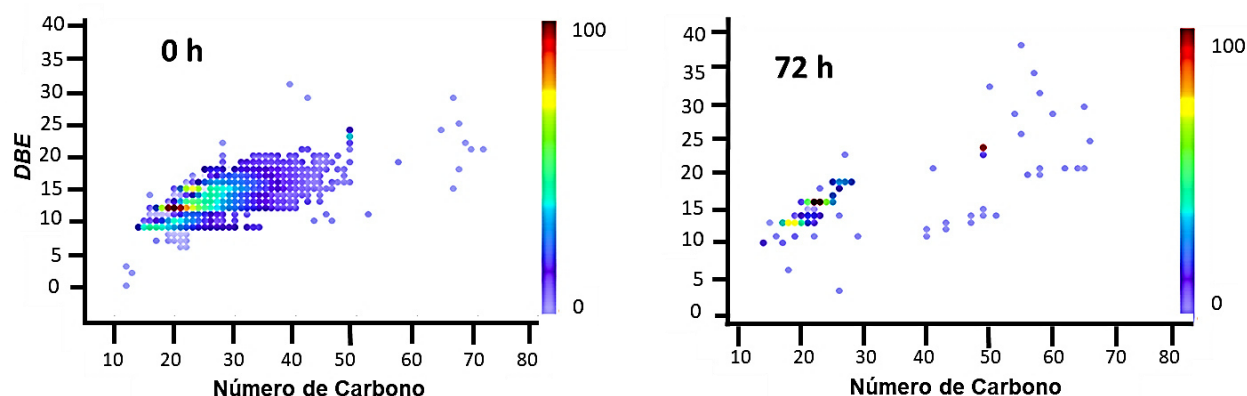


Figura 61 - Evolução da classe N_1 do óleo AM-0453 por ESI(-)-FTMS para o ambiente marinho.



5 CONCLUSÕES

De modo geral, ao longo das 72 horas do experimento, comparando-se, os aspectos dos óleos estudados, foi possível observar uma maior diminuição no percentual de carbono total para o óleo de $^{\circ}$ API médio ($\sim 16\%$), sendo essa perda fruto da redução da fração de saturados e aromáticos, como pode ser determinado pelo fracionamento SARA.

Comparando-se os diferentes ambientes, foi determinado que para os óleos UOSEAL-01 e AM-0453 em contato com a água do mar, ambas as frações de saturados sofreram poucas alterações com o processo, em média 3% e 1%, respectivamente. Os compostos aromáticos, de outra forma, sofreram reduções consideráveis, 5% e 12%, para os óleos UOSEAL-01 e AM-0453, respectivamente. O decaimento destas duas frações dá-se, principalmente, pela evaporação dos compostos destas classes, e tal afirmação pôde ser confirmada através da relação entre os biomarcadores $Pr/n-C_{17}$ e $Ph/n-C_{18}$, onde foi observada uma pequena tendência de biodegradação, indicando baixa contribuição deste processo na depleção desses.

Para o óleo em contato com a água do rio, o decréscimo na fração de saturados foi maior para ambos os óleos, 16% para o UOSEAL-01 e 4% para o AM-0453, indicando que o meio aquático fluvial possui maior degradabilidade dos compostos parafínicos. Isso pôde ser confirmado através da relação entre o $Pr/n-C_{17}$ e $Ph/n-C_{18}$, onde verificou-se uma tendência sistemática de biodegradação, sendo observado para o óleo AM-0453 maior sistematicidade na biodegradação dessa classe compostos.

No tocante a fração polar do óleo, ao longo das 72 horas, algumas alterações foram vistas. Primeiramente, o aumento da razão O/C para ambos os óleos e em ambos os ambientes, indicando que os mesmos sofreram processos oxidativos já nas primeiras horas de exposição ao meio ambiente aquático. Esse acréscimo pode ser visualizado, também, por outras análises, como no fracionamento SARA, onde foi detectado um aumento da fração resinóica.

De modo geral, a oxigenação dos óleos foi observada por FTMS no modo negativo como sendo fruto do aumento da classe O_2 , haja visto que ambos os óleos apresentaram o mesmo comportamento, ou seja, aumento dos ácidos

naftênicos com mais de 5 anéis condensados em sua composição. Sendo esse fruto da oxigenação que ocorre naturalmente no ambiente para as classes de álcoois e aldeídos, confirmados pelo histograma de classe a partir da diminuição da classe O_1 em ambos os modos.

Foi observado que a classe de nitrogênio básico (N_1), constituída de cadeias carbônicas maiores que C_{50} e DBE maior que 15, é provavelmente, mais susceptível à processos foto-oxidativos, e por essa razão, a diminuição de compostos nitrogenados foi detectada pela análise elementar para o óleo AM-0453.

Esse estudo apresentou o primeiro trabalho acerca da avaliação das mudanças inerentes aos processos de intemperismo, ou estresse ambiental, que ocorrem sobre óleos brutos de $^{\circ}API$ diferentes, durante as primeiras 72 horas de contato com diferentes meios aquáticos. Através dele foi possível discutir as mudanças iniciais nas frações de saturados, aromáticos e resinas presentes em diferentes amostras de petróleo. Tal discussão pode, no futuro, servir como suporte a outras linhas de pesquisa correlatas, como biorremediação de ambiente impactado ou química forense de petróleo.

6 REFERÊNCIAS

- [1] A. K. Huba and P. R. Gardinali, "Characterization of a crude oil weathering series by ultrahigh-resolution mass spectrometry using multiple ionization modes," *Sci. Total Environ.*, vol. 563–564, pp. 600–610, 2016.
- [2] L. Yin, M. Zhang, Y. Zhang, and F. Qiao, "The long-term prediction of the oil-contaminated water from the Sanchi collision in the East China Sea," *Acta Oceanol. Sin.*, no. 2016, pp. 2016–2019, 2018.
- [3] R. V. Gaier, "Furto em duto da Transpetro provoca vazamento de óleo na Baía de Guanabara _ EXAME," 2018.
- [4] R. de C. F. S. Silva, D. G. Almeida, R. D. Rufino, J. M. Luna, V. A. Santos, and L. A. Sarubbo, "Applications of biosurfactants in the petroleum industry and the remediation of oil spills," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 15, no. 7, pp. 12523–12542, 2014.
- [5] C. Wang, B. Chen, B. Zhang, S. He, and M. Zhao, "Fingerprint and weathering characteristics of crude oils after Dalian oil spill, China," *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 71, no. 1–2, pp. 64–68, 2013.
- [6] A. C. Bejarano and J. Michel, "Oil spills and their impacts on sand beach invertebrate communities: A literature review," *Environ. Pollut.*, vol. 218, pp. 709–722, 2016.
- [7] J. Beyer, H. C. Trannum, T. Bakke, P. V. Hodson, and T. K. Collier, "Environmental effects of the Deepwater Horizon oil spill : A review," *Mpb*, vol. 110, no. 1, pp. 28–51, 2016.
- [8] Y. Cho, J.-G. Na, N.-S. Nho, S. Kim, and S. Kim, "Application of Saturates, Aromatics, Resins, and Asphaltenes Crude Oil Fractionation for Detailed Chemical Characterization of Heavy Crude Oils by Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry Equipped with Atmospheric Pressure Photoionization," *Energy & Fuels*, vol. 26, no. 5, pp. 2558–2565, 2012.
- [9] F. Suja *et al.*, "Effects of local microbial bioaugmentation and biostimulation on the bioremediation of total petroleum hydrocarbons (TPH) in crude oil contaminated soil based on laboratory and field observations," *Int. Biodeterior. Biodegradation*, vol. 90, pp. 115–122,

2014.

- [10] S. Marine, "Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Scottish Deepwater Environments (MoreDeep)," vol. 8, no. 9, pp. 456–459, 2018.
- [11] J. Gros, C. M. Reddy, C. Aeppli, R. K. Nelson, C. A. Carmichael, and J. S. Arey, "Resolving biodegradation patterns of persistent saturated hydrocarbons in weathered oil samples from the Deepwater Horizon disaster," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 48, no. 3, pp. 1628–1637, 2014.
- [12] Harold M. McNair and J. M. Miller, *Basic Gas Chromatography*. A Wiley-Interscience Publication, 1993.
- [13] J. M. Santos, F. M. L. Santos, M. N. Eberlin, and A. Wisniewski, "Advanced Aspects of Crude Oils Correlating Data of Classical Biomarkers and Mass Spectrometry Petroleomics," *Energy and Fuels*, vol. 31, no. 2, pp. 1208–1217, 2017.
- [14] P. T. H. Nascimento *et al.*, "Fractionation of Asphaltene by Adsorption onto Silica and Chemical Characterization by Atmospheric Pressure Photoionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry, Fourier Transform Infrared Spectroscopy Coupled to Attenuated Total Re," *Energy & Fuels*, vol. 30, no. 7, pp. 5439–5448, 2016.
- [15] F. A. Rojas-Ruiz and J. A. Orrego-Ruiz, "Distribution of Oxygen-Containing Compounds and Its Significance on Total Organic Acid Content in Crude Oils by ESI Negative Ion FT-ICR MS," *Energy and Fuels*, vol. 30, no. 10, pp. 8185–8191, 2016.
- [16] K. L. Lemkau, A. M. McKenna, D. C. Podgorski, R. P. Rodgers, and C. M. Reddy, "Cosco Busan Spill: Insights from Fourier Transform Ion Cyclotron," *Environ. Sci. Technol.*, 2014.
- [17] S. Killops and V. Killops, *Introduction to Organic Geochemistry*. 2005.
- [18] J. G. Speight, *Handbook of Petroleum Product Analysis global properties*, 4th ed. Hoboken, New Jersey: Wiley- Interscience, 2002.
- [19] M. Höök, U. Bardi, L. Feng, and X. Pang, "Development of oil formation theories and their importance for peak oil," *Mar. Pet. Geol.*, vol. 27, no. 9, pp. 1995–2004, 2010.
- [20] G. P. Glasby, "Abiogenic origin of hydrocarbons: An historical overview,"

- Resour. Geol.*, vol. 56, no. 1, pp. 83–96, 2006.
- [21] C. C. Walters, “Springer Handbook of Petroleum Technology,” pp. 359–379, 2017.
 - [22] D. . Tissot, B.P. Welte, *Petroleum Formation and Occurrence*, vol. 66, no. 37. 1985.
 - [23] J. Speight, “The Chemistry and Technology of Petroleum, Fourth Edition,” vol. 20064186, 2006.
 - [24] K. E. Peters and J. M. Moldowan, *The Biomarker Guide: Interpreting molecular fossils in petroleum and ancient sediment*. New York: Prentice Hall, 1993.
 - [25] S. M. Sarathy, A. Farooq, and G. T. Kalghatgi, “Recent progress in gasoline surrogate fuels,” *Prog. Energy Combust. Sci.*, vol. 65, pp. 67–108, 2018.
 - [26] J. C. Mol, “Industrial applications of olefin metathesis,” vol. 213, pp. 39–45, 2004.
 - [27] S. J. Varjani, “Microbial degradation of petroleum hydrocarbons,” *Bioresour. Technol.*, vol. 223, pp. 277–286, 2016.
 - [28] J. M. Santos *et al.*, “Petroleomics by ion mobility mass spectrometry: resolution and characterization of contaminants and additives in crude oils and petrofuels,” *Anal. Methods*, vol. 7, no. 11, pp. 4450–4463, 2015.
 - [29] M. M. Bonduszynski and K. H. Altgelt, *Composition and analysis of heavy petroleum fractions*. New York: Marcel Dekker, 1994.
 - [30] K. . Peters, C. . Walters, and J. M. Moldowan, *The Biomarker guide: Interpreting Molecular Fossils in Petroleum and Ancient Sediments*, 2nd ed. New Jersey: Cambridge University Press, 2005.
 - [31] F. J. González-Vila, O. Polvillo, T. Boski, D. Moura, and J. R. De Andrés, “Biomarker patterns in a time-resolved holocene/terminal Pleistocene sedimentary sequence from the Guadiana river estuarine area (SW Portugal/Spain border),” *Org. Geochem.*, vol. 34, no. 12, pp. 1601–1613, 2003.
 - [32] A. Braithwaite and F. J. Smith, *Chromatographic Methods*, 5th ed. Dordrecht - The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1996.
 - [33] Z. Yang *et al.*, “Effect of evaporative weathering and oil-sediment interaction on the fate and behavior of diluted bitumen in marine

- environments. Part 2. The water accommodated and particle-laden hydrocarbon species and toxicity of the aqueous phase,” *Chemosphere*, vol. 191, pp. 145–155, 2018.
- [34] C. Yang *et al.*, “Characterization of chemical fingerprints of unconventional Bakken crude oil,” *Environ. Pollut.*, vol. 230, pp. 609–620, 2017.
- [35] R. C. Prince, G. W. Nash, and S. J. Hill, “The Biodegradation of Crude Oil,” vol. 62, no. 17151775, p. 17637341, 2016.
- [36] A. Xaaldi Kalhor, A. Movafeghi, A. D. Mohammadi-Nassab, E. Abedi, and A. Bahrami, “Potential of the green alga *Chlorella vulgaris* for biodegradation of crude oil hydrocarbons,” *Mar. Pollut. Bull.*, vol. 123, no. 1–2, pp. 286–290, 2017.
- [37] C. H. Collins, G. L. Braga, and P. S. Bonato, *Introdução a Métodos Cromatográficos*, 7th ed. Campinas - SP: Editora da UNICAMP, 1997.
- [38] S. S. V. Da Silva, “Avaliação da metodologia de classificação SARA de óleos brutos e estudo da redução de escala,” *Diss. Mestrado. Univ. Fed. Sergipe. Depto Eng. Química. São Cris. SE. Bras.*, p. 113, 2016.
- [39] S. Rudyk, “Relationships between SARA fractions of conventional oil, heavy oil, natural bitumen and residues,” *Fuel*, vol. 216, no. December 2017, pp. 330–340, 2018.
- [40] Y. Pan, Y. Liao, Q. Shi, and C. S. Hsu, “Acidic and neutral polar NSO compounds in heavily biodegraded oils characterized by negative-ion ESI FT-ICR MS,” *Energy and Fuels*, vol. 27, no. 6, pp. 2960–2973, 2013.
- [41] L. S. Eberlin, X. Liu, C. R. Ferreira, S. Santagata, N. Y. R. Agar, and R. G. Cooks, “Desorption electrospray ionization then MALDI mass spectrometry imaging of lipid and protein distributions in single tissue sections,” *Anal. Chem.*, vol. 83, no. 22, pp. 8366–8371, 2011.
- [42] P. D’Aloise and H. Chen, “Rapid determination of flunitrazepam in alcoholic beverages by desorption electrospray ionization-mass spectrometry,” *Sci. Justice*, vol. 52, no. 1, pp. 2–8, 2012.
- [43] W. Romão *et al.*, “Petroleomics by Direct Analysis in Real Time-Mass Spectrometry,” *J. Am. Soc. Mass Spectrom.*, vol. 27, no. 1, pp. 182–185, 2016.
- [44] J. M. Santos, P. H. Vendramini, N. V. Schwab, M. N. Eberlin, and D. R.

- De Moraes, "A dopant for improved sensitivity in easy ambient sonic-spray ionization mass spectrometry," *J. Mass Spectrom.*, vol. 51, no. 1, pp. 53–61, 2016.
- [45] J. H. Gross, *Mass Spectrometry – A Textbook*. Berlin Heidelberg: Springer, 2004.
- [46] C. Ho *et al.*, "Electrospray Ionisation Mass Spectrometry: Principles and Clinical Applications," *Clin Biochem Rev*, vol. 24, no. February, pp. 3–12, 2003.
- [47] E. M. SCHMIDT, "Espectrometria de Massas por FT-ICR e Orbitrap: Química Forense, Análise de Petróleo e seus derivados," UNICAMP, 2015.
- [48] M. Scigelova and A. Makarov, *Fundamentals and Advances of Orbitrap Mass Spectrometry*. 2000.
- [49] R. A. Zubarev and A. Makarov, "Orbitrap Mass Spectrometry.," *Anal Chem*, vol. 85, no. 11, pp. 5288–5296, 2013.
- [50] A. Michalski *et al.*, "Mass Spectrometry-based Proteomics Using Q Exactive, a High-performance Benchtop Quadrupole Orbitrap Mass Spectrometer," *Mol. Cell. Proteomics*, vol. 10, no. 9, 2011.
- [51] C. F. F. Angolini, M. A. Pudenzi, A. Batezelli, and M. N. Eberlin, "Comprehensive Petroleomics: Multiple Mass Spectrometry Strategies for Crude Oil Characterization," *Encycl. Anal. Chem.*, pp. 1–16, 2017.
- [52] C. Aeppli, R. K. Nelson, J. R. Radović, C. A. Carmichael, D. L. Valentine, and C. M. Reddy, "Recalcitrance and degradation of petroleum biomarkers upon abiotic and biotic natural weathering of Deepwater Horizon oil," *Environ. Sci. Technol.*, vol. 48, no. 12, pp. 6726–6734, 2014.
- [53] L. C. Krajewski, R. P. Rodgers, and A. G. Marshall, "126 264 Assigned Chemical Formulas from an Atmospheric Pressure Photoionization 9.4 T Fourier Transform Positive Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrum," *Anal. Chem.*, p. acs.analchem.7b02004, 2017.
- [54] J. Santos, A. Vetere, A. Wisniewski, M. Eberlin, and W. Schrader, "Comparing Crude Oils with Different API Gravities on a Molecular Level Using Mass Spectrometric Analysis. Part 2: Resins and Asphaltenes," *Energies*, vol. 11, no. 10, p. 2767, 2018.
- [55] Y. Cho, A. Ahmed, A. Islam, and S. Kim, "Developments in FT-ICR MS

- instrumentation, ionization techniques, and data interpretation methods for petroleomics,” *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 34, no. 6, pp. 248–263, 2015.
- [56] A. Islam, Y. Cho, U. H. Yim, W. J. Shim, Y. H. Kim, and S. Kim, “The comparison of naturally weathered oil and artificially photo-degraded oil at the molecular level by a combination of SARA fractionation and FT-ICR MS,” *J. Hazard. Mater.*, vol. 263, pp. 404–411, 2013.
- [57] A. V. Soloviev *et al.*, “Surface dynamics of crude and weathered oil in the presence of dispersants: Laboratory experiment and numerical simulation,” *J. Geophys. Res. Ocean*, vol. 121, no. 5, pp. 3502–3516, 2016.
- [58] N. Das and P. Chandran, “Microbial Degradation of Petroleum Hydrocarbon Contaminants: An Overview,” *Biotechnol. Res. Int.*, vol. 2011, pp. 1–13, 2011.
- [59] R. M. GARRETT, I. J. PICKERING, C. E. HAITH, and R. C. PRINCE, “Photooxidation of crude oils,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 32, no. 23, pp. 3719–3723, 1998.
- [60] D. Ribicic, R. Netzer, A. Winkler, and O. G. Brakstad, “Comparison of microbial community dynamics induced by distinct crude oil dispersions reveals compositional differences,” *J. Sea Res.*, vol. 141, no. 9, pp. 112–118, 2018.
- [61] F. Deeba, V. Pruthi, and Y. S. Negi, “Aromatic hydrocarbon biodegradation activates neutral lipid biosynthesis in oleaginous yeast,” *Bioresour. Technol.*, vol. 255, no. January, pp. 273–280, 2018.
- [62] FLÁVIA LORENA RESENDE and LESSA, “ESTUDOS DE ÁCIDOS NAFTÊNICOS E NAFTENATOS EM ÓLEOS BRUTOS DA UNIDADE OPERACIONAL SERGIPE-ALAGOAS,” UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE, 2016.
- [63] S. P. Maletić, B. D. Dalmacija, S. D. Rončević, J. R. Agbaba, and S. D. U. Perović, “Impact of hydrocarbon type, concentration and weathering on its biodegradability in soil,” *J. Environ. Sci. Heal. - Part A Toxic/Hazardous Subst. Environ. Eng.*, vol. 46, no. 10, pp. 1042–1049, 2011.
- [64] W. Liu *et al.*, “Use of ESI FT-ICR MS to investigate molecular transformation in simulated aerobic biodegradation of a sulfur-rich crude

- oil,” *Org. Geochem.*, vol. 123, pp. 17–26, 2018.
- [65] W. Liu, Y. Liao, Q. Shi, C. S. Hsu, B. Jiang, and P. Peng, “Origin of polar organic sulfur compounds in immature crude oils revealed by ESI FT–ICR MS,” *Org. Geochem.*, 2018.
- [66] G. . da Cruz and A. . Marsaioli, “PROCESSOS NATURAIS DE BIODEGRADAÇÃO DO PETRÓLEO EM RESERVATÓRIOS,” *Quim. Nov.*, vol. 35, no. 8, pp. 1628–1634, 2012.
- [67] S. A. Stout and Z. Wang, *Standard Handbook Oil Spill Environmental Forensics: Fingerprinting and Source Identification: Second Edition*. 2016.